CRISTINA MANDRAVEL RODICA STĂNESCU DUMITRU

IV 521276

RELAȚII ÎNTRE STRUCTURĂ, PROPRIETĂȚI ȘI ACTVITATE BIOLOGICĂ APLICATE LA POLUANȚI INDUSTRIALI

Editura Universității din București

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CRISTINA MANDRAVEL RODICA STĂNESCU DUMITRU

RELAŢII ÎNTRE STRUCTURĂ, PROPRIETĂŢI ŞI ACTIVITATE BIOLOGICĂ APLICATE LA POLUANŢI INDUSTRIALI

EDITURA UNIVERSITĂŢII BUCUREŞTI
1999

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Biblioteca Centrală Universitară
" Carol I " Bucureşti
Cota IV 521 276

652/12

Referenţi ştiinţifici: Acad. Prof. V. Em. Sahini
Prof. Dr. Mihaela Hillebrand

B.C.U. "CAROL I" BUCURESTI
C20126722

© Editura Universităţii din Bucureşti
Şos. Panduri, 90–92, Bucureşti - 76235; Telefon/Fax: 410.23.84

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale
MANDRAVEL, CRISTINA
Relaţii între structură, proprietăţi şi activitate biologică aplicate la poluanţi industriali / Cristina Mandravel; Rodica Stănescu Dumitru
Bucureşti; Editura Universităţii din Bucureşti, 1999
88 p.; 28 cm
Bibliogr.
ISBN: 973 - 575- 404 - 5
I. Stănescu-Dumitru, Rodica
504.054

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CUPRINS

Prefață 5
1. Introducere 9
2. Clasificarea noxelor industriale. Noțiuni fundamentale utilizate în toxicologia industrială 11
3. Proprietăți fizico-chimice ale poluanților industriali determinante pentru activitatea lor biologică 11
3.1. Proprietăți fizico-chimice care determină efectele biologice ale substanțelor toxice industriale 11
3.1.1. Doza 11
3.1.2. Structura chimică 15
3.1.2.1. Proprietăți fizice corelate cu structura moleculară 16
3.1.2.1.1. Starea de agregare 16
3.1.2.1.2. Masa moleculară și gradul de dispersie 16
3.1.2.1.3. Structura cristalină 17
3.1.2.1.4. Volatilitatea 17
3.1.2.1.5. Lipo- și hidrosolubilitatea 18
3.1.2.1.6. Gradul de ionizare (pH, pK) 21
3.1.2.2. Proprietăți chimice corelate cu structura moleculară 22
3.1.2.2.1. Grupările chimice 22
3.1.2.2.2. Izomeria 23
3.1.2.2.3. Tipul legăturilor chimice 23
3.1.2.2.4. Structura electronică 26
3.2. Proprietăți fizico-chimice care determină efectele biologice ale pulberilor industriale 30
3.2.1. Pulberi silicogene 30
3.2.1.1. Mărimea și proprietățile adsorbtive ale particulelor 30
3.2.1.2. Structura cristalină 33
3.2.1.3. Structura electronică 33
3.2.2. Pulberi de azbest 36
3.2.2.1. Dimensiunile și morfologia fibrelor 36
3.2.2.2. Solubilitatea în mediile biologice 38
3.2.2.3. Sarcina electrică 39
3.2.2.4. Activitatea catalitica 40
3.2.3. Fibre minerale artificiale 43
3.2.3.1. Dimensiunile fibrelor 44
3.2.3.2. Solubilitatea și durabilitatea 45
3.2.3.3. Activitatea de suprafață 45
3.2.4. Pulberi metalice 45
4. Proprietăți fizico-chimice utilizate în studiul riscului potențial de poluare a mediului prin noi substanțe chimice sintetizate la scară industrială 47
4.1. Spectre de absorbție UV-vis 48
4.2. Punctul de topire / Intervalul de topire 48
4.3. Punctul de fierbere / Intervalul de fierbere 48

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.4. Curba presiunii de vapori 48
4.5. Solubilitatea în apă 49
4.6. Procesele de adsorbţie / desorbţie 49
4.7. Coeficientul de repartiţie (n-octanol / apă) 49
4.8. Activitatea termodinamică 50
4.9. Alţi parametri 50
5. Relaţii cantitative structură chimică-activitate biologică 51
5.1. Analiza Hansch 51
5.1.1. Ecuaţia Hammett 52
5.1.2. Ecuaţia Taft 56
5.1.2.1. Constantele de substituent inductive 56
5.1.2.2. Constantele de substituent care descriu efectul steric 56
5.1.2.3. Separarea efectelor inductive de cele de conjugare în compuşii meta- şi para-substituiţi 57
5.1.2.4. Constante de substituent care descriu radicalii liberi 57
5.1.3. Ecuaţia Zahradnik 58
5.1.4. Ecuaţia Hansch 59
5.1.4.1. Exemple de analiză Hansch în cazul unor poluanţi industriali 64
5.2. Metoda Free-Wilson 68
5.3. Metoda de corelare structură-efect 69
5.4. Calculul indicilor de reactivitate 69
5.4.1. Metode de calcul a indicilor de reactivitate 69
5.4.2. Indici de reactivitate 70
5.4.2.1. Aproximaţia statică (modelul moleculelor izolate) 71
5.4.2.2. Aproximaţia dinamică 72
5.5. Aplicabilitatea metodelor QSAR în toxicologie 73
6. Calculul toxicităţii şi al limitelor admise ale poluanţilor industriali din date fizico-chimice 75
Bibliografie 80

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

PREFAŢĂ

Ştiinţa fundamentală a naturii, chimia – disciplină a oricărui obiect îl constituie studiul substanţelor şi al transformării acestora - a făcut ca, prin aplicaţiile sale, să modifice profund condiţiile de viaţă şi de activitate ale omenirii. Omniprezenţa chimiei în societate este una din caracteristicile importante ale acestui sfârşit de secol şi de mileniu, convingător ilustrată de lista foarte cuprinzătoare şi în continuă lărgire de medicamente de uz uman şi veterinar, îngrăşăminte, biostimulatori, antidăunători, combustibili, lubrifianţi, fire şi fibre sintetice, elastomeri, coloranţi, lacuri, vopsele, agenţi de spălare, materiale de construcţie, sticlă, hârtie, carton, celuloză etc., la care se adaugă produse ale industriei metalurgice şi ale celei alimentare. Practic, toate celelalte ramuri ale industriei fac pe larg apel la produse ale industriei chimice. Pe bună dreptate s-a afirmat că această disciplină a intervenit considerabil pentru a ajuta omenirea în alimentaţie, în apărarea sănătăţii, în asigurarea unor condiţii cât mai bune de viaţă, în efortul general de dezvoltare a economiei, iar în ultimele decenii sunt demne de menţionat aplicaţiile chimiei în electronică şi microelectronică, în industria aerospaţială, energetică nucleară etc.

Această dezvoltare impresionantă a chimiei aplicate, împreună cu celelalte ramuri industriale, care de altfel au beneficiat în măsură diferită de produsele industriei chimice, a fost însoţită însă, proporţional cu producţia realizată, de procese diferite de perturbare a mediului ambiant în urma poluării atmosferei, apelor, solului şi, într-o oarecare măsură, a subsolului.

Aceste procese, uneori deosebit de complicate şi cu evoluţie dependentă de numeroşi factori locali dar şi aleatorii, au condus, în timp la „o nouă filosofie" a progresului industriei în general, al celei chimice în special, ţinând seama de implicaţiile acesteia în alimentaţie, sănătate, transport etc. Această orientare are în vedere, în special, o dezvoltare suportabilă, acceptabilă în mai mare măsură decât un consum bazat pe distrugerea resurselor naturale.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aliniindu-se la acest efort al chimiei contemporane, volumul doamnelor Prof. dr. Cristina Mandravel şi cerc. dr. Rodica Stănescu Dumitru „Relaţii între structură, proprietăţi şi activitate biologică aplicate la poluanţi industriali" completează o lacună a literaturii de specialitate, făcând o utilă prezentare a unor laturi fizico-chimice ale tematicii respective.

Această tratare este deosebit de importantă în special deoarece se abordează laturile cauzale ale efectelor biologice ale unor poluanţi industriali, expunerea urmând să asigure cititorului cunoştinţele generale pentru a reda cantitativ relaţiile cauză-efect şi a explica procesele respective în cadrul unor modele fizico-chimice.

Aspectele centrale ale problemei sunt bine expuse şi sistematic tratate: clasificarea noxelor industriale, riscul potenţial de poluare şi calculul toxicităţii poluanţilor industriali din date fizico-chimice.

În această ultimă problemă autoarele expun şi unele contribuţii originale, de mare utilitate în condiţiile concrete ale industriei şi pentru a asigura monitorizarea şi interpretarea factorilor care influenţează activitatea umană.

În această perspectivă, volumul de faţă constituie o valoroasă contribuţie la alinierea industriei chimice din România la standardele ecologice foarte ridicate ale Europei occidentale.

15.04.1999 ***Acad. Prof. V. Sahini***

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

1. INTRODUCERE

Importanţa practică a stabilirii unor relaţii între structură, proprietăţile şi acţiunea biologică a poluanţilor industriali rezidă în principal în posibilitatea evaluarii reale a riscului în expunere atât prin calculul indicilor de toxicitate cât şi a limitelor de expunere a substantelor industriale.

Studiul unor astfel de relaţii deschide noi căi în domeniul prevenirii şi combaterii efectelor biologice ale noxelor industriale prin argumentarea mecanismelor de acţiune ale acestora, prin interpretarea diferenţelor de activitate biologică în funcţie de proprietăţile fizico-chimice şi prin "proiectare" moleculară a medicamentelor, pesticidelor etc.

Cunoaşterea relaţiilor structură-activitate biologică permite semnalarea structurilor potenţial cancerigene şi în consecintă testarea lor prioritară, prin aceasta contribuind la micsorarea riscului pe care il prezintă compuşii cancerigeni asupra sănătăţii populaţiei.

Se estimează că în cazul obţinerii unui pesticid comercial, numarul compuşilor testaţi se situează între 3000 şi 8000. De asemeni, pentru fiecare medicament nou se testează între 3000 şi 5000 de compuşi. Utilizarea relaţiilor cantitative structura chimica-activitate biologică a permis reducerea de 20-30 de ori a cifrelor menţionate mai sus.

Posibilitatea măsurării mai acurate, mai rapide şi mai puţin costisitoare a proprietăţilor fizico-chimice ale substanţelor comparativ cu efectele lor biologice oferă alternativa înlocuirii, într-o oarecare măsură a experimentelor pe animale pentru testarea toxicităţii prin tehnici pe computer.

Lucrarea abordează, în acord cu importanţa teoretică şi practică, studiul proprietăţilor fizico-chimice determinante pentru activitatea biologică a poluanţilor industriali, subcapitole separate fiind destinate noxelor chimice sau substanţelor toxice şi noxelor fizico-chimice sau pulberilor. Intr-un capitol separat este abordat studiul proprietăţilor utilizate pentru aprecierea riscului potenţial de poluare a mediului prin noi substanţe chimice sintetizate la scară industrială.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

O atenţie sporită s-a acordat capitolului privind relaţiile cantitative structură chimică-activitate biologică, insistându-se asupra înţelegerii aprofundate a semnificaţiei acestora şi asupra rolului pe care acestea l-ar putea avea în deciziile care se iau privind acţiunea toxică a poluanţilor.

Un ultim capitol priveşte calculul toxicităţii poluanţilor industriali din date fizico-chimice. În cadrul acestui capitol sunt discutate o serie de cazuri de predicţie a toxicităţii poluanţilor aerului industrial pe baza corelaţiilor între proprietăţile fizico-chimice şi indicii de toxicitate pe de o parte şi între indicii toxicităţii acute şi nivelele permise ale substanţelor în aer, pe de altă parte.

Prin utilizarea unor cunostinţe din domeniul unor discipline de graniţă şi a unor metode menite a spori acurateţea cercetărilor toxicologice paralel cu reducerea timpului şi a costului acestora, lucrarea se adresează tuturor specialiştilor preocupaţi de problematica prevenirii poluării mediului ambiant în general şi a celui industrial, în special.

Prezentul material este propus în calitate de „curs opţional" pentru studenţii secţiei de Chimia mediului, care este în curs de acreditare la Facultatea de Chimie din Universitatea Bucureşti.

Observaţiile asupra cărţii, semnalarea scăderilor şi propunerile de imbunătăţire a materialului prezentat vor fi primite de autori cu recunoştinţă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2. CLASIFICAREA NOXELOR INDUSTRIALE. NOŢIUNI FUNDAMENTALE UTILIZATE ÎN TOXICOLOGIA INDUSTRIALĂ

Munca în sine nu este un factor nociv, un factor etiologic al unor îmbolnăviri, ci dimpotrivă reprezintă un factor de generare şi de menţinere a stării de sănătate.

Activitatea profesională (munca) se desfăşoară în anumite condiţii numite *condiţii de muncă* care se pot transforma uneori în factori etiologici ai bolilor profesionale.

Condiţiile de muncă includ o serie de factori dintre care de o importanţă deosebită sunt *factorii mediului de muncă.* Aceştia sunt constituiţi la rândul lor dintr-o serie de alţi factori şi anume [2] :

a. factori *fizici*: temperatura şi umiditatea aerului, zgomotul, trepidaţiile, radiaţiile ionizante şi neionizante etc. ;
b. factori *chimici* ce cuprind substanţele chimice rezultate din procesele tehnologice şi care pot deveni toxice profesionale când concentraţia lor în aerul zonelor de muncă depăşeşte limitele maxime admise ;
c. în categoria factorilor *fizico-chimici* sunt cuprinse pulberile anorganice şi organice de natură animală sau vegetală existente în aerul locurilor de muncă.

In această lucrare se va face o tratare separată a substanţelor toxice şi a pulberilor privind proprietăţile fizico-chimice determinante pentru activitatea lor biologică.

Când unii din factorii componenţi ai condiţiilor de muncă au efect nefavorabil asupra capacităţii de muncă sau asupra sănătăţii muncitorilor ei devin *noxe profesionale.*

Evaluarea, printr-o supraveghere permanentă a noxelor din mediul de muncă se numeşte *monitorizarea* mediului de muncă. Monitorizarea (care se realizează prin masurare calitativă şi cantitativă a factorilor nocivi fizici, chimici, biologici, fiziologici, psiho-sociali) are drept scop precizarea gradului de risc [3]. În cazul poluanţilor chimici şi fizico-chimici o serie de alte studii,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

dintre care merită amintite cele experimentale, epidemiologice şi nu în ultimul rând studiile relaţiilor între structura chimică şi activitatea biologică se utilizează pentru stabilirea toxicităţii acestora.

Toxic este substanţa care după patrunderea în organism în doză relativ ridicată (unică sau repetată la intervale scurte), sau în doze mici (repetate în timp îndelungat), determină imediat sau după o perioadă de latentă, în mod trecator sau persistent, alterarea uneia sau mai multor funcţii ale organismului, putand duce la moarte [4,5]. De fapt, nu există substantă toxică în sine. Se poate afirma ca orice moleculă instabilă termodinamic la o temperatură depasind zero absolut prezintă o reactivitate care, în anumite condiţii, se poate exprima prin toxicitate. Ca urmare, sfera noţiunii de toxic este mai largă cuprinzand pe langă toxicii recunoscuţi şi substanţe utilizate în diferite domenii, ca de ex. medicamentele.

Toxicitatea reprezintă gradul de incompatibilitate a unei substanţe cu viaţa unui organism.

Hazardul reprezintă capacitatea inerentă a unui agent sau proces chimic, fizic (fizico-chimic) sau biologic de a produce efecte nocive în condiţiile poluarii mediului. Prin *risc* se înţelege probabilitatea ca acel agent sau proces (chimic, fizic, biologic) să cauzeze efecte nocive [5].

Deşi expunerile profesionale (factorii mediului de muncă) au fost definite ca fiind fizice, chimice şi fizico-chimice, trebuie menţionat faptul că acestea sunt de obicei *multiple*, muncitorii fiind expusi simultan sau succesiv diferiţilor agenţi fizici, chimici etc. Combinarea diferiţilor factori existenţi în mediul de muncă sau în afara lui poate avea un efect diferit de cel provocat de fiecare dintre aceşti factori luaţi separat. În acest sens, au fost definite urmatoarele tipuri de efecte combinate pentru expunerile multiple [6] :

- efecte *independente* sau *indiferente :* acţiunea substanţelor prezente în aerul zonelor de muncă se desfăşoară independent, adică fiecare dintre substanţe produce un efect diferit, datorită unui mod de acţiune diferit ;

- efecte *sinergice* când substanţele acţionează în acelasi sens. Efectul global poate fi de două feluri :

a. de *adiţie (sumaţie)* când efectul combinat este egal sau mai mic decât suma efectelor substanţelor considerate luate separat ; acest efect are loc când substanţele acţionează asupra aceluiasi tip de receptor

b. de *potentare* când efectul combinat este mai mare decât suma efectelor substanţelor considerate luate separat ; acest efect are loc când substanţele acţionează asupra unor receptori diferiţi

- efecte *antagonice* : substanţele considerate acţionează în sens contrar, rezultand un efect global (efectul combinat) micsorat, nul sau inversat.

De menţionat că în toxicologia industrială sinergismul este mai frecvent întâlnit comparativ cu fenomenele de antagonism [6].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3. PROPRIETĂŢI FIZICO - CHIMICE ALE POLUANŢILOR INDUSTRIALI DETERMINANTE PENTRU ACTIVITATEA LOR BIOLOGICĂ

In toxicologie, activitatea biologică a unui *substrat (poluant)* se exprimă pe baza interacţiunii moleculelor poluantului cu anumite molecule specifice din organism, complecsi moleculari sau părţi ale lor care caracterizează *substratul activ* şi care se numesc *receptori.* Receptorii biologici sunt deci entităţi structurale ce mediază apariţia răspunsului biologic. Receptorii sunt localizaţi în biomacromolecule (proteine, acizi nucleici, polizaharide) sau pe membranele biologice [7,8].

Conform teoriei receptorului, o interacţiune substrat – receptor depinde de *afinitatea chimică* a moleculelor substratului (sau a unuia dintre metaboliţii acestuia) şi receptorului dar şi de un *aranjament spaţial* favorabil al acestora.

In toate etapele drumului parcurs de un poluant în organism (patrundere, absorbţie, depozitare şi/sau acumulare, metabolizare, eliminare) tipul de efect şi intensitatea acestuia sunt preponderent determinate de proprietăţile fizice şi chimice ale acestuia, ponderea unora fiind diferită de la o etapă la alta. Alţi factori care influienţează activitatea biologică a substanţelor sunt cei dependenţi de organism (specia, sexul, vârsta, starea psihică, stările patologice, factorii genetici, bioritmul) şi cei dependenţi de condiţiile de mediu (condiţiile de comfort, temperatură, presiunea atmosferică, zgomotul, radiaţiile ionizante, alimentaţia şi starea de nutriţie) [4,7].

In cele ce urmează vor fi expuse proprietăţile fizico-chimice care determină activitatea biologică a poluanţilor industriali, insistându-se asupra acelora care sunt responsabile de toxicitatea acestora.

3.1. PROPRIETĂŢI FIZICO-CHIMICE CARE DETERMINĂ EFECTELE BIOLOGICE ALE SUBSTANTELOR TOXICE INDUSTRIALE

3.1.1. Doza reprezintă cantitatea de substantă care, introdusă în organism produce un efect determinat. Doza de substantă absorbită ca masură a toxicităţii substanţelor inhalate este direct proporţională cu concentraţia de toxic existent în aer şi cu timpul de expunere [5,9,10] :

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

$$Doza = C \times t \times MV \times \alpha \quad (3.1)$$

unde C = concentraţia toxicului în aer

t = timpul de expunere

MV = minut volum (este o constantă care depinde de capacitatea respiratorie a persoanei expuse şi de volatilitatea substanţei inhalate)

α = coeficient de reţinere al toxicului în organism (retenţie %)

In fig. 3.1 sunt prezentate relaţiile doza-efect în cazul expunerii la clor [5].

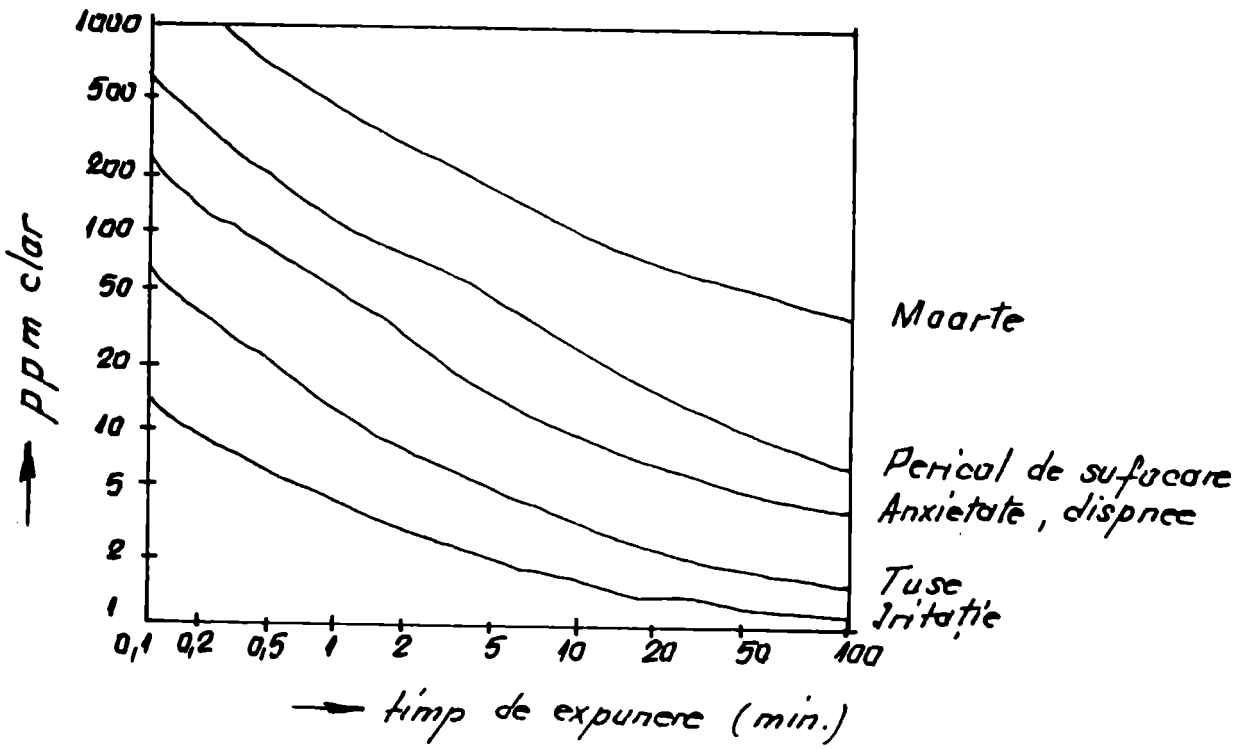


Fig. 3.1. Toxicitatea clorului.

Se observă din fig. 3.1 că efectele induse depind de doza administrată.

Pentru supravegherea expunerii la toxice profesionale se folosesc noţiunile de doză-efect şi doză-răspuns. *Relaţia doză-efect* se referă la efectul toxic produs de o singură doză (efectul este strict dependent de marimea dozei) (fig. 3.2a). *Relaţia doză-răspuns* se referă la numarul (procentul) de indivizi dintr-un grup care prezintă aceleaşi modificări (dau acelaşi răspuns) la o anumită doză de toxic (fig. 3.2b) [5,11,12,13].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

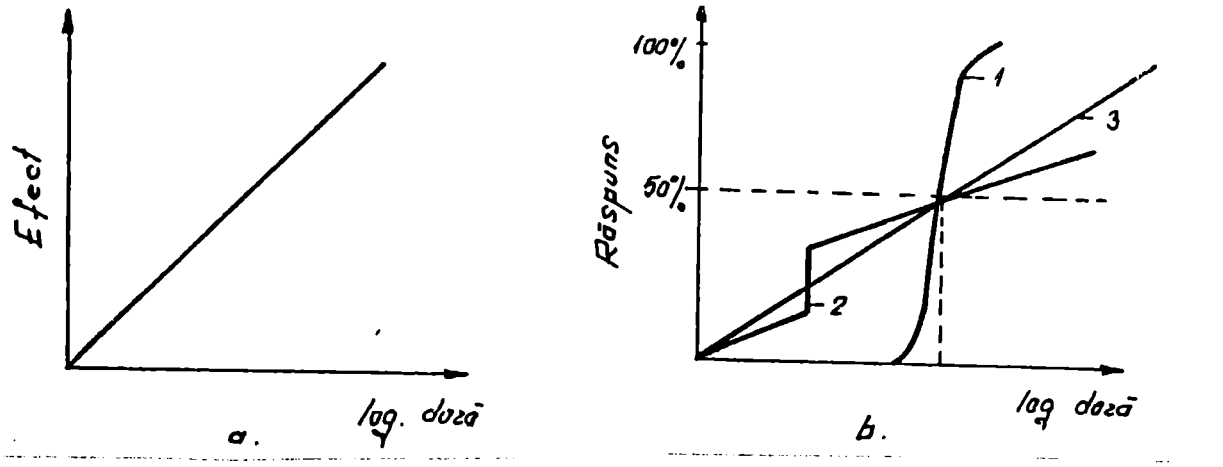


Fig. 3.2. a) Relaţia doză-efect ; b) relaţia doză-răspuns : 1. în cazul intoxicaţiilor inhalatorii cu gaze iritante ; 2. în cazul experimentului subcronic ; 3. în cazul experimentului acut.

Referitor la doză se definesc o serie de parametri (indici) de bază şi parametri (indici) derivaţi utilizaţi pentru determinarea toxicităţii şi aprecierea riscului substanţelor chimice [2, 4, 5, 12]. Astfel, urmatorii *parametri de bază* pot fi enumeraţi :

- *doza toxică* reprezintă cantitatea de substantă capabilă să determine efecte toxice ;

- *doza letală (DL)* exprimă toxicitatea acută a substanţelor chimice care patrund în organism pe cale orală sau parenterală (injectabilă). Doza letală variază cu specia, starea de nutriţie, starea de stres etc. (adică nu este un parametru constant al substanţelor ca de ex. densitatea, solubilitatea sau presiunea de vapori). Această doză nu este un indicator fidel al toxicităţii acute şi se utilizează în scopul controlului intoxicaţiilor în experimente pe animale precum şi pentru scopuri administrative (clasificarea substanţelor), dar nu se poate face nici o predicţie a toxicităţii cronice.

Doza letală se stabileşte experimental şi se exprimă în mg/kg corp. Se notează cu DL urmat de un indice de la 1 la 100 care indică procentul de letalitate într-un timp dat. Astfel, se disting urmatoarele tipuri de DL : DL_5 (DLM) = doza letală minimă ; DL_{50} (DML) = doza medie letală ; DL_{75} = doza fatală ; DL_{100} = doza maximă letală (doza letală absolută) ; DL_0 = doza maximă tolerată (este folosită adesea în practică deşi nu este o doza letală, aceasta indicând producerea de efecte toxice, dar nu letale).

- *concentraţia letală în atmosferă (CL)* exprimă toxicitatea acută a substanţelor chimice care patrund pe cale respiratorie şi are aceeasi semnificaţie şi categorii ca şi DL

- *pragul de efect acut integrat* ($Lim_{ac.int.}$) este corelat cu starea generală de sănătate apreciată prin reacţii comportamentale, capacitate de muncă fizică şi psihică, metabolism energetic etc.

- *pragul de efect acut specific* ($Lim_{ac\ sp}$) este corelat cu starea unui sistem, organ, ţesut, celule ;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- *coeficientul de acumulare* (expunere repetată) ,I_{cum}, este dat de relaţia :

$$I_{cum} = \frac{DL_{50}}{\sum DL_{50}} \qquad (3.2)$$

- *pragul de efect nociv* se consideră a fi doza (sau concentraţia) minimă care determină la animalele expuse (in condiţii de expunere standard şi utilizand loturi de animale standardizate statistic) modificari care depăşesc limitele reacţiilor de adaptare fiziologica.

S-au definit urmatorii *parametri derivaţi* :

- *zona de efect acut* (Z_{ac}) :

$$Z_{ac} = \frac{CL_{50}}{Lim_{ac}} \qquad (3.3)$$

- *zona de efect specific* (Z_{sp}) :

$$Z_{sp} = \frac{Lim_{ac\,int}}{Lim_{acsp}} \qquad (3.4)$$

- *zona de efect cronic* (Z_{cr}) :

$$Z_{cr} = \frac{Lim_{ac}}{Lim_{cr}} \qquad (3.5)$$

unde Lim_{cr} = pragul de efect cronic

- *coeficientul de intoxicaţie potenţială prin inhălare (CIPI)* :

$$CIPI = \frac{C_{20}}{CL_{50}} \qquad (3.6)$$

- *zona de efect biologic* (Z_{biol}) :

$$Z_{biol} = \frac{DL_{50}(sau CL_{50})}{Lim_{cr}} \qquad (3.7)$$

- *coeficientul de siguranţă* (I_s) :

$$I_s = \frac{Lim_{cr}}{CAV} \qquad (3.8)$$

unde CAV = concentraţia admisibilă de varf

- *potenţialul de toxicitate (pT)* este dat de relaţia :

$$pT = \log [T] \qquad (3.9)$$

unde T = concentraţia molară toxică a substanţei exprimată în moli / kg şi se calculează după valoarea DL_{50} i. p. la soareci

pT se foloseşte pentru aprecierea mai exactă a toxicităţii acute a substanţelor cu mase moleculare variind între 300 – 1000000.

In scopul evitarii apariţiei efectelor toxice ale substanţelor chimice existente în atmosfera zonelor industriale, s-au stabilit *limite de expunere.* Această denumire este recomandată de Biroul Internaţional al Muncii a fi utilizată în locul termenilor de «concentraţie maximă admisă» sau «limita tolerabilă» deoarece noţiunea de «admis» implică recunoasterea administrativă care nu întotdeauna există iar noţiunea de «tolerabil» se referă la o evaluare biologică şi nu este întotdeauna valabilă pentru toţi muncitorii [2].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

S-au definit urmatoarele limite de expunere [2,4,14] :

- *Valoarea limită prag – medie ponderată cu timpul* (după terminologia americană TLV-TWA sau Threshold Limit Value – Time Weight Average) a fost definită în 1977 la Geneva de Consfatuirea experţilor asupra limitelor de expunere la substanţe periculoase în aer ca reprezentand concentraţia medie ponderată cu timpul a unei substanţe nocive în aer, despre care se ştie că nu are efecte nocive pe termen lung şi asupra generaţiilor viitoare la o expunere de 8 ore/zi şi 40 ore/săptămână. Experţii americani definesc această limită ca reprezentand concentraţia medie ponderată cu timpul a unei substanţe în aer pentru 8 ore/zi şi 40 ore/saptamană la care muncitorii pot fi expusi în fiecare zi fară a se produce vreun efect advers. Reiese din definiţie ca această expunere poate cuprinde durata întregii activităţi profesionale. Această limită corespunde, conform legislaţiei din tara noastră *concentraţiei admisibile medii (CAM).*

- *Valoarea limită prag – plafon (*TLV-C sau Threshold Limit Value – Ceiling) reprezintă concentraţia care nu trebuie depasită nici o secundă (chiar în cazul concentraţiilor instantanee) şi corespunde , conform legislaţiei din tara noastră *concentraţiei admisibile de varf (CAV).*

- *Valoarea limită prag – limită pentru o expunere pe termen scurt* (TLV – STEL sau Threshold Limit Value – Short Term Exposure Limit) este expunerea medie ponderată cu timpul pe o perioadă de 15 min. (care nu trebuie să se repete mai mult de două ori pe zi) la care muncitorii expuşi nu trebuie să sufere de iritaţie intolerabilă, modificări cronice sau ireversibile ale ţesuturilor sau necroza de un grad suficient pentru a creşte riscul de accidente sau reducerea capacităţii de muncă sau scăderea capacităţii de a se salva în caz de necesitate. Intre două expuneri la STEL trebuie să existe cel puţin 60 min. Această limită nu are corespondent în legislaţia din ţara noastră.

Trebuie remarcat faptul că limitele de expunere sunt utilizate în scopul prevenirii apariţiei bolilor profesionale, dar ele nu garantează complet sănătatea tuturor muncitorilor expuşi [2].

3.1.2. Structura chimică

Structura substanţelor determină atât activitatea chimică cât şi activitatea biologică a acestora (fig. 3.3)

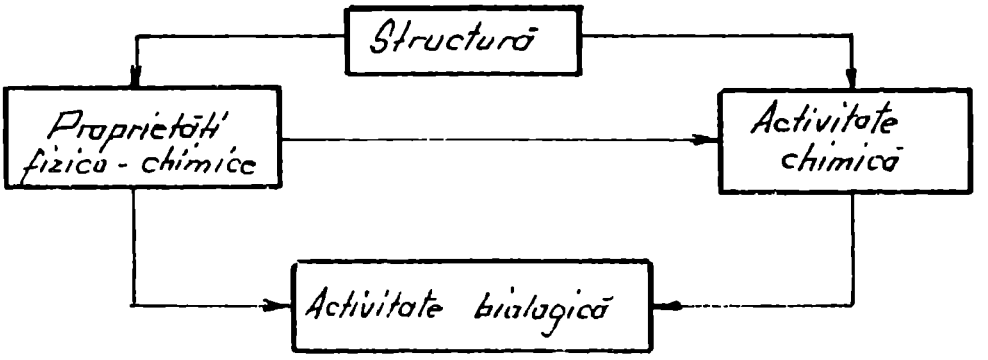


Fig. 3.3. Relaţia între structură, proprietăţi şi activitatea buiologică a substanţelor chimice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Proprietăţile corelate cu structură moleculară pot fi de natură fizică sau chimică.

3.1.2.1. Proprietăţi fizice corelate cu structura moleculara

Acest grup de proprietăţi include starea de agregare a substanţelor, masa moleculară şi gradul de dispersie al acestora, forma amorfă volatilitatea, hidro- şi liposolubilitatea, gradul de ionizare.

3.1.2.1.1. Starea de agregare

Starea de agregare trebuie luată în consideraţie în evaluarea toxicităţii substanţelor chimice numai în cazul anumitor căi de patrundere, de ex. toxicii gazosi acţionează rapid şi intens când patrund pe cale respiratorie; toxicii lichizi patrund în principal în organism pe cale cutanată (pe această cale patrund în proporţie mică numai unii toxici aflaţi în stare gazoasă sau de vapori ca de ex. HCN, H_2S etc).

3.1.2.1.2 . Masa moleculară şi gradul de dispersie

O masă moleculară mare şi un grad de dispersie mic influienţează negativ viteza de absorbţie a substanţelor chimice în organism.

In general, depasirea unei anumite dimensiuni a moleculei toxicului îngreunează atingerea concentraţiei optime pentru inducerea unui efect în compartimentul "ţintă", compartimentul interacţiunii toxicului cu receptorul.

Literatura de specialitate arată că o creştere treptată a marimii catenei are ca rezultat o modificare a proprietăţilor biologice [15,16]. Astfel, pentru substanţele narcotice s-a stabilit că în seriile omologe, acţiunea narcotică creşte odată cu creşterea numarului de atomi de carbon; paralel cu intensificarea acţiunii narcotice se observă şi creşterea activităţii bactericide, hemolitice şi iritante nespecifice. După cum se observă în fig. 3.4, există serii în care activitatea biologică prezintă un maxim urmat de o scadere – curba A (de ex. variaţia acţiunii narcotice la hidrocarburile alifatice saturate care arată o creştere până la C_5, apoi scade în progresie geometrică între C_5 – C_8; peste C_8 acţiunea narcotică continuă să scadă, dar nu se mai observă aceiasi relaţie); serii în care activitatea creşte cu lungimea catenei – curba B (cazul creşterii toxicităţii alcoolilor alifatici de la etanol la pentanol); serii în care activitatea biologică prezintă variaţii în funcţie de paritatea atomilor de carbon – curba C; în alte serii omologe activitatea biologică arată o creştere până la un anumit numar de atomi de carbon, fară ca omologii superiori să devină mai activi – curba D şi serii în care activitatea biologică scade cu creşterea numărului atomilor de carbon, primul termen prezentând o activitate maximă – curba E (în acest caz pot fi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

menţionate efectele hematologice la hidrocarburile aromatice mononucleare sau efectul iritant al aldehidelor care prezintă o scadere de la formaldehidă la butiraldehidă) [17].

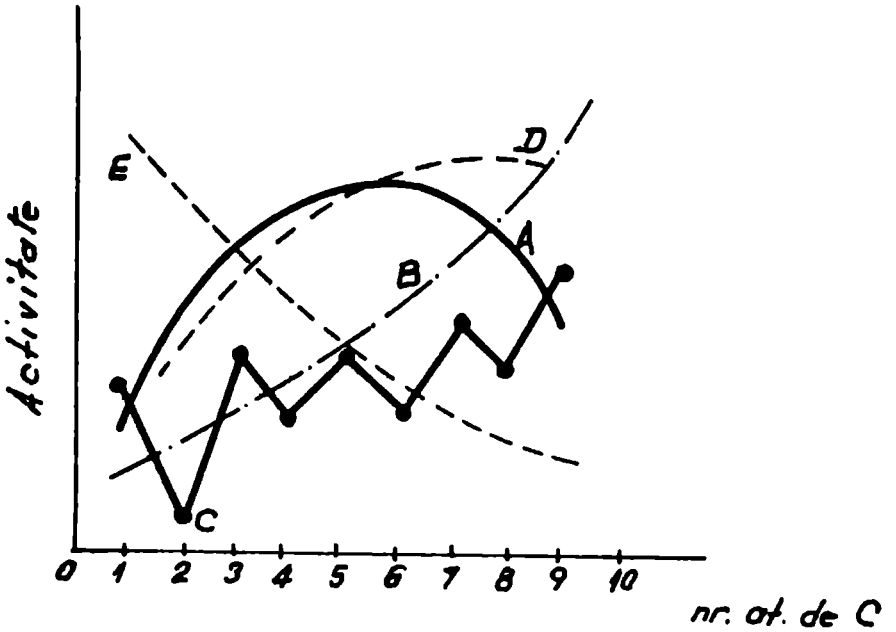


Fig. 3.4. Variaţia activităţii biologice în funcţie de numărul atomilor de carbon.

3.1.2.1.3 . Structura cristalină

Aproximativ 1/3 din compuşii organici prezintă polimorfism şi această proprietate are importantă pentru comportamentul cinetic al substanţelor toxice.

In unele cazuri, forma amorfă a substanţei se dizolvă şi se absoarbe mai rapid în organism comparativ cu forma cristalină a aceleiasi substanţe. În alte cazuri, substanţele sunt active numai sub formă amorfă deoarece forma cristalină nu poate fi absorbită datorită unei solubilităţi reduse, a unui punct de topire ridicat şi a unei stabilităţi chimice crescute.

3.1.2.1.4 . Volatilitatea

Volatilitatea influienţează acţiunea toxică a substanţelor, astfel că la toxicităţi egale, riscul este mai mare la substanţele mai volatile.

Cunoaşterea volatilităţii (V) şi a toxicităţii absolute a unei substanţe (toxicitate monofazică) (M), permite calcularea pericolului de intoxicare (toxicitate bifazică) (B) după formula lui Lehman [18,19]:

$$B = M \times V \qquad (3.10)$$

După Lazarev [20] se disting două cazuri:

a. cazul seriilor omologe cu funcţiuni puternic polare (alcooli de ex.) când toxicitatea bifazică creşte cu creşterea numarului de atomi de carbon (legea Richardson);

BIBLIOTECA
https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

b. cazul seriilor omologe care nu conţin funcţiuni puternic polare (hidrocarburi, eteri) la care toxicitatea bifazică scade paralel cu creşterea numarului de atomi de carbon, deşi, în conformitate cu legea Richardson, toxicitatea monofazică creşte.

In tabelul nr. 3.1 este prezentată toxicitatea mono- şi bifazică a unor hidrocarburi clorurate [18].

Tabel 3.1. **Toxicitatea mono- şi bifazică a unor hidrocarburi clorurate**

Substanţa	Toxicitate monofazică relativă (M)	Volatilitate relativă (V)	Toxicitate bifazică (B)
Tetraclorura de carbon	1,0	4,1	4,1
Percloretilena	1,6	1,0	1,6
Tricloretilena	1,7	2,2	3,5
Dicloretilena	1,7	5,8	9,9
Cloroform	2,2	6,3	13,9
Pentacloretan	6,2	0,17	1,0
Tetracloretan	9,1	0,2	1,8

Se observă din tabelul 3.1 că deşi toxicitatea unor hidrocarburi nu este ridicată (dicloretilena sau cloroform de ex.), datorită volatilităţii crescute, pericolul de intoxicare (toxicitatea bifazică) este mare; din contră în cazul tetracloretanului, deşi toxicitatea este mare, dată fiind volatilitatea mică a acestei substanţe, pericolul de intoxicare este scazut.

3.1.2.1.5. Lipo- şi hidrosolubilitatea

Proprietăţile de lipo- şi hidrosolubilitate precum şi raportul acestora influenţează cinetica de absorbţie şi / sau eliminare a toxicelor profesionale din organism.

Orice substanta chimică total insolubilă nu poate fi absorbită în organism. Exceptand calea de administrare intravenoasă când o substanţa este introdusă total în sange, caile de absorbţie respiratorie, cutanată etc. implică absorbţia la nivelul membranelor celulare.

Dizolvarea unui toxic în membrana celulară este condiţionată de lipofilie, deoarece membrana este lipoidică. După traversarea membranei, moleculele substanţei toxice difuzează în apa intracelulară apoi în apa extracelulară (pentru a ajunge la locul de acţiune), motiv pentru care toxicul trebuie să posede şi proprietăţi hidrofile. Pentru acest motiv, viteza cea mai mare de absorbţie o vor avea moleculele cu un coeficient mediu de repartiţie lipide / apă (numit coeficient Owerton – Meyer) [5,21].

Lazarev clasifică solvenţii organici în 9 clase în funcţie de valoarea coeficientului Owerton – Meyer (tabelul 3.2) [20].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabelul 3.2. **Clasificarea solvenţilor organici în funcţie de coeficientul Owerton – Meyer**

Clasa	Tip de solvent	Indice de hidrosolubilitate	Coeficient Owerton – Meyer
I-III	alcool	mare	mic
IV-V	eter	mijlociu	mijlociu
VI-IX	benzen	mic	mare

In tabelul 3.3 sunt prezentate unele date privind coeficientul de repartiţie lipide / apă al unor compuşi şi permeabilitatea acestora prin membrana celulară [7].

a. Patrunderea pe cale respiratorie

In cazul acestei căi de patrundere, când coeficientul lipide / apă este mic, adică compusul este hidrosolubil, tip *alcool*, organismul are capacitate de absorbţie mare, saturarea şi eliminarea pulmonară au loc lent, producandu-se intoxicaţii *cronice* (prin acumulare în timp). Când coeficientul lipide / apă este mare, adică compusul are proprietăţi liposolubile accentuate, tip *benzen*, saturarea şi eliminarea pulmonară se produc rapid producandu-se intoxicaţii *acute*.Totusi, la hidrocarburile alifatice şi aromatice s-a constatat o eliminare treptată din cauza acumularii în ţesutul adipos.

Tabel 3.3. **Coeficientul de repartiţie lipide / apă al unor substanţe toxice şi permeabilitatea acestora prin membrana celulară**

Compus	Coeficient de repartiţie (ulei de masline / apa)	Permeabilitate prin membrana celulară
1,2-Dihidroxipropan	570	24000
Propionamida	360	36000
Acetamida	83	15000
Glicol	50	12000
N-metiluree	44	1900
Uree	15	1000
Glicerol	7	210
Eritreitol	3	13
Sucroza	3	4

In tabelul 3.4 sunt prezentate unele date experimentale privind relaţia dintre coeficientul de repartiţie lipide / apă şi factorul de bioconcentrare la peşti, FBC (raportul concentraţiei unei substanţe în peşte şi concentraţia aceleiaşi substanţe în apa înconjurătoare)[7].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabelul 3.4. **Raportul între coeficientul de repartiţie lipide / apă al unor clorbenzeni şi factorul de bioconcentrare al acestora la peşti**

Compus	Log coeficientului de repartiţie lipide / apă	FBC
1,4- Diclorbenzen	3,53	1800
1,2,3- Triclorbenzen	4,20	13000
1,3,5-Triclorbenzen	4,20	14000
1,2,3,5-Tetraclorbenzen	4,94	72000
Pentaclorbenzen	5,69	260000

In fig. 3.5 este prezentată viteza de absorbţie în cazul expunerii prin inhalare şi atingerea saturaţiei în sangele circulant pentru unele substanţe aflate sub forma de gaze şi vapori [23].

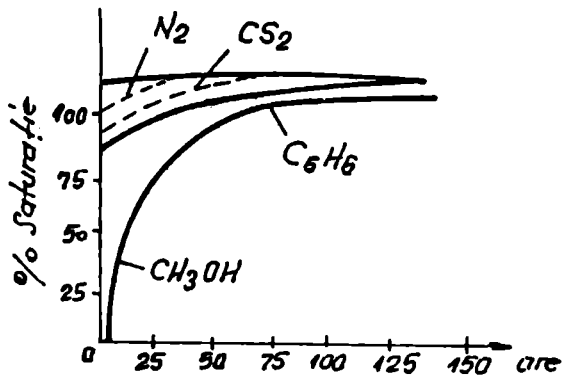


Fig. 3.5. Absorbţia în sânge a unor substanţe aflate sub formă de gaze şi vapori.

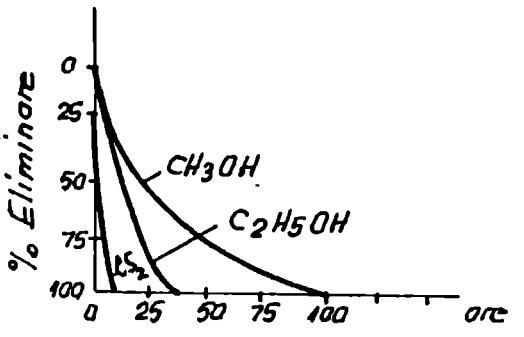


Fig. 3.6. Eliminarea din sânge a unor substanţe după expunere prin inhalare.

Se observă din fig. 3.5 că metanolul (coeficient lipide / apă mic) saturează sangele treptat, în timp ce benzenul, azotul şi sulfura de carbon (coeficient lipide / apă mare) ating rapid peste 75% din saturaţie.

In fig. 3.6 este prezentată viteza de eliminare din sânge a unor substanţe după expunere prin inhalare [23].

Din fig. 3.6 se constată că metanolul şi etanolul (coeficient lipide / apă mic) se elimină lent. Eliminarea mai rapidă a etanolului comparativ cu metanolul se datoreşte oxidării rapide care îi măreşte capacitatea de eliminare sub formă de CO_2 în aerul expirat ; metanolul se elimină ca atare în aerul expirat în proporţie de 70%. Sulfura de carbon, puţin hidrosolubilă se elimină rapid.

In funcţie de valoarea coeficientului lipide / apă gazele pot produce efecte în diferite zone ale aparatului respirator [22] :

- gazele care sunt usor solubile în apă se dizolvă în mucoasa membranelor nazale şi în tractul respirator superior, provocand iritaţia acestora. La concentraţii atmosferice mici, o concentraţie relativ scazută a gazului respectiv va ajunge în plamani datorită efectului «filtru» pe care îl au caile respiratorii

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

superioare. La concentraţii mari în aer ale noxei respective, caile respiratorii superioare vor absorbi numai o parte din gazele sau vaporii iritanţi, o bună parte ajungand în plaman (alveole) putand produce iritaţii severe şi chiar edem pulmonar. Este cazul acidului clorhidric, fluorhidric, amoniacului ;

- gazele insolubile în apă nu se dizolvă în caile respiratorii superioare, ajungand astfel cu usurintă la nivelul cailor respiratorii profunde. De ex. cazul fosgenului sau al dioxidului de azot ;

- gazele având solubilitate medie în apă (ca de ex. clorul şi ozonul) produc iritaţii atât la nivelul aparatului respirator superior, cât şi ale celui inferior ;

- unele gaze ca de ex. oxidul de carbon nu sunt iritante ale tractului respirator, dar sunt absorbite rapid în sange, producand intoxicaţii.

b. Pătrunderea pe cale cutanată

In acest caz, riscul de intoxicaţie este dependent atât de proprietăţile liposolubile ale toxicului (care controlează tranzitul transcutanat) cât şi de cele hidrosolubile (care determină transportul substanţei în organism). De aceea toxicele cu coeficient lipide / apă mediu, tip *eter,* prezintă un risc de absorbţie cutanat crescut.

c. Pătrunderea pe cale digestivă

Pot străbate membranele gastro–intestinale atât toxicele hidrosolubile (de ex. $BaCl_2$),cat şi cele liposolubile (de ex. parationul).

3.1.2.1.6. Gradul de ionizare (pH, pK)

In funcţie de pH-ul mediului şi de taria acido-bazică diverse substanţe pot fi ionizate într-o oareçare măsură, fapt care le imprimă afinităţi pentru diverse medii ale organismului. Astfel, acizii slabi (de ex. acidul salicilic) sunt neionizabili în mediu acid, fiind astfel absorbiţi în stomac ; în schimb bazele slabe (de ex. alcaloizii) sunt puternic ionizate în mediu acid, fiind astfel absorbite în duoden (al cărui pH este alcalin). Acizii şi bazele puternice, care sunt puternic disociate la pH-uri fiziologice, nu traversează barierele lipoproteice celulare şi intracelulare, neajungând deci în contact cu structurile subcelulare implicate în biotransformarile toxicelor [4,7].

Raportul între concentraţia unui acid în formă ionizată (A^-) şi neionizată (HA) poate fi calculat cu ajutorul formulei Henderson – Hasselbach, din valoarea pH-ului şi a constantei de disociere, k_a [7] :

$$\log \frac{[A^-]}{[HA]} = pH - pk_a \qquad (3.11)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Similar, pentru baze se poate scrie :

$$\log \frac{[B^-]}{[BOH]} = pk_b - pH \quad (3.12)$$

unde $[B^-]$ şi [BOH] = concentraţia bazei în formă ionizată şi neionizată.

In tabelul 3.5 sunt prezentate efectele pH-ului apei de acvariu asupra valorilor CL_{50} la peşte în cazul unor clorfenoli.

Tabel 3.5. **Efectul pH-ului asupra valorilor CL_{50} în cazul unor clorfenoli**

Compus	$CL_{50}(\mu mol \cdot l^{-1})$	
	pH = 6	pH = 8
4-Clorfenol (pk_a =9,37)	60	71
Pentaclorfenol (pk_a = 6,69)	0,44	3,4

3.1.2.2. Proprietăţi chimice corelate cu structura moleculară

3.1.2.2.1. Grupările chimice

Grupările chimice existente în molecula substanţelor determină tipul de efect biologic. Grupările responsabile de toxicitate se numesc *toxofore* :

$$= C =,\ S =,\ = C = C =,\ -NO_2,\ -N = C =,\ - C \equiv N,\ \equiv P< \begin{matrix} X \\ Y \end{matrix},\ - CH_3,\ - C_2H_5.$$

Grupările care intensifică acţiunea toxică numite *autotoxe* sunt : $- NH_2$, $= C = C =$, C_6H_5, $= C_6H_4$, $= CH_2$, halogeni, oxizi inferiori, - OH.

Astfel, privind acţiunea narcotică a substanţelor toxice, se constată că aceasta creşte odată cu introducerea în molecula hidrocarburii în locul atomilor de hidrogen, a unui grup hidroxil, sau în locul atomilor de oxigen, sulf ; alcoolul metilic şi etilic au o acţiune narcotică mult mai accentuată decât metanul şi etanul. Introducerea halogenilor în moleculă şi mai ales a fluorului duce la creşterea însemnată a acţiunii narcotice. Comparand metanul (CH_4), clorura de metil (CH_3Cl), clorura de metilen (CH_2Cl_2) şi cloroformul (CH_3Cl) se constată că acţiunea narcotică creşte paralel cu numarul atomilor de clor. Tetraclorura de carbon are acţiune narcotică mai mică decât cloroformul, dar cea mai mare toxicitate.

In afara efectelor narcotice, introducerea clorului în moleculă accentuează toxicitatea compusului cu apariţia rapidă a unor modificări histopatologice grave în organele parenchimatoase (ficat, rinichi, plamani, splină etc.).

In cazul hidrocarburilor clorurate cu legături multiple (tricloretilenă, clorbutadienă, diclorbutenă) nu se observă acelasi tip de acţiune.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1.2.2.2. Izomeria

Izomeria influienţează *intensitatea* şi *tipul* de acţiune toxică.

Privind *izomeria de catenă* se poate afirma, ca regulă generală, că substanţele organice neramificate sunt mai toxice decât cele cu lant ramificat [1]. Astfel, ramificaţia catenei atomilor de carbon la hidrocarburi slăbeşte acţiunea narcotică. Hidrocarburile ciclice care prezintă o singură catenă laterală lungă au o acţiune toxică mai puternică comparativ cu izomerii lor care conţin două sau mai multe catene laterale scurte.

Izomeria de poziţie poate fi de asemeni corelată cu un anumit tip de acţiune toxică. În acest sens, trebuie amintit faptul că în naftilamine poziţia beta a radicalului aminic este esenţială pentru efectul cancerigen.

Izomeria optică şi geometrică influienţează acţiunea toxică a substanţelor chimice prin dirijarea stabilirii legăturilor substanta toxică – receptor.

In organism, numai apa, sarurile minerale şi câteva substanţe organice nu prezintă activitate optică. În schimb, receptorii fiind substanţe proteice, sunt de obicei optic - activi. În cazul când substituenţii atomului de carbon asimetric al substanţei toxice nu participă la interacţia cu receptorul între izomerii D şi L ai acesteia există diferenţe mici sau nule ale acţiunii toxice.

Izomerii geometrici, ca urmare a distanţei dintre gruparile reactive, pot induce variaţii ale intensităţii legăturii substanta toxică – receptor.

3.1.2.2.3. Tipul legăturilor chimice

Tipul legăturilor chimice existente în substanţele toxice, dar mai ales tipul legăturilor chimice stabilite între substanţele toxice şi diverse molecule din organism au o influientă importantă asupra manifestării activităţii toxice.

Astfel, existenţa legăturilor multiple în molecula hidrocarburilor alifatice conduce la creşterea acţiunii lor narcotice. De ex. acetilena are acţiune narcotică mai pronuntată comparativ cu etena, iar etena are acţiune narcotică mai mare decât etanul. Acelasi fenomen se observă şi în cazul hidrocarburilor ciclice cu numar mai mic de 6 atomi de carbon. În afara acţiunii de narcoză existenţa legăturilor multiple în molecula toxicului duce la apariţia acţiunii iritative [11,12].

Privind legăturile stabilite între toxice şi diverse molecule ale organismului, s-a constatat că acestea pot fi electrostatice, covalente, de hidrogen, van der Waals sau hidrofobe [7,24,25,26].

Legarea substanţelor toxice de *proteinele din sange* are o influientă importantă asupra toxicităţii acestora deoarece duce la o scadere a concentraţiei substanţei libere din sange, fapt care influienţează activitatea ei biologică. Albumina, proteina plasmatică cea mai abundentă, leagă predominant acizii şi bazele organice, deoarece la pH=7,4 (pH-ul sângelui), aceasta posedă atât sarcini pozitive cât şi negative. Legăturile stabilite sunt de natură electrostatică.

Proteinele plasmatice au afinitate mare pentru compuşi hidrofobi. În acest caz au loc interacţii «hidrofobe» cu acele părţi ale structurii proteice care sunt nepolare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

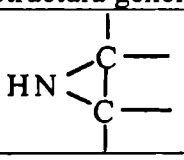
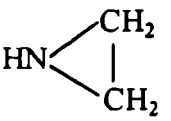
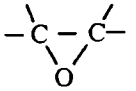
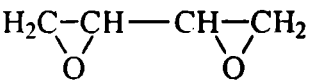
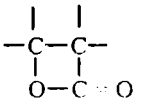
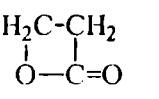
Interacţiile stabilite în cursul metabolizării toxicului depind de *enzima* conţinută de substrat. Gradul de metabolizare al unui compus depinde de activitatea enzimei şi de reactivitatea substanţei. Dacă centrul activ al enzimei este hidrofob, vor domina interacţiile hidrofobe. Dimpotrivă dacă centrul activ al enzimei este polar, vor avea loc interacţii bazate pe legături ionice, legături de hidrogen sau van der Waals. În general, între substanţele toxice şi moleculele ţintă interacţiile se bazează pe stabilirea unor legături ionice, de hidrogen, van der Waals, hidrofobe sau covalente. Un exemplu privind formarea legăturilor covalente il constituie reacţia între grupele electrofile şi nucleofile. Electrofilii sunt molecule ce conţin un atom cu deficit de electroni, având de aceea o sarcină pozitivă parţială sau totală. Ei reacţionează cu compuşi nucleofili, care conţin atomi cu surplus de electroni, formandu-se o legătură covalentă ireversibilă. Un grup important de electrofili il constituie compuşii de alchilare cu structura generală R-X (unde R este un grup alchil). Aceştia reacţionează cu grupe nucleofile (Nu), formând o legătură covalentă :

$$R\text{-}X + Nu \rightarrow X + R\text{ - }Nu$$

Acest tip de reacţie este cunoscută sub numele de *substituţie nucleofilă.* În timpul reacţiilor de substituţie nucleofilă se formează un ion carboniu (R^+).

Interacţia dintre o serie de compuşi mutageni (şi adesea şi cancerigeni) cu macromolecula ADN se bazează pe stabilirea unor legături covalente ca urmare a reacţiei dintre grupele nucleofile ale ADN (NH_2, NH şi atomi O ai bazelor purinice şi pirimidinice) şi grupe electrofile ale agenţilor mutageni. În urma interacţiei are loc modificarea structurii ADN (de unde şi denumirea de compuşi mutageni). Proteinele sunt de asemeni bogate în grupe nucleofile, capabile să reacţioneze cu agenţii electrofili. În tabelul 3.6 sunt prezentate o serie de grupe de compuşi care pot reacţiona cu compuşi nucleofili [5].

Tabel 3.6. **Exemple de compuşi care reacţioneaza direct cu grupe nucleofile**

Clasa de compuşi	Structura generală	Exemplu	Nume
Imine			Etilenimina
Epoxizi			Diepoxibutan
Lactone			β-propiolactona
Esteri sulfat	$(RO)_2SO_2$	$CH_3OSO_2OCH_3$	Dimetilsulfat
Hidrocarburi halogenate		$CH_2{=}CH{-}CH_2Cl$	Clorura de alil

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

In general, electrofilii «slabi» tind a reacţiona cu nucleofili slabi, iar electrofilii «puternici»tind a reacţiona cu nucleofili de aceeasi tarie. În tabelul 3.7 sunt date câteva exemple de grupe electrofile şi nucleofile şi variaţia tăriei acestora.

Tabel 3.7. **Variaţia tariei caracterului electrofil şi nucleofil în cazul unor grupări electrofile şi nucleofile**

Electrofili	Nucleofili
Carbon în legături duble polarizate (ex. chinone, cetone α - β – nesaturate) Carbon în epoxizi, halogenuri de aril Ioni de carboniu (aril) Ioni de carboniu (benzil) Ioni de carboniu (alchil)	Sulf în tioli (ex. resturi cisteinil în proteine) Sulf în metionina Azot în grupe amino primare şi secundare din proteine Azot din grupe amino din bazele purinice ale acizilor nucleici Oxigen din bazele purinice şi pirimidinice ale acizilor nucleici Oxigen fosfat din acizii nucleici

In lucrările sale, Krishana şi colab. [27,28] arată că în cazul necrozei celulei hepatice induse de derivaţii halogenaţi ai benzenului, un rol hotarator il constituie formarea unor legături covalente ale acestora cu proteinele ficatului.

Dată fiind complexitatea sistemelor biologice, există puţini compuşi pentru care se cunoaşte modul de acţiune la nivel molecular.

Tabelul 3.8 sumarizează diferitele tipuri de interacţii posibile între poluanţi şi moleculele organismului şi proprietăţile fizico-chimice care influenţează aceste interacţii; de asemeni, tabelul arată parametrii care se utilizează pentru compararea tariei acestor interacţii (o serie dintre aceşti parametri vor fi discutaţi în cap. 5).

Tabel 3.8. **Tipuri de interacţii poluant – molecule biologice, proprietăţi fizico-chimice determinante şi parametrii utilizaţi pentru descrierea acestor interacţii**

Interacţie (reacţie)	Proprietate fizico-chimică	Parametrul utilizat pentru descrierea interacţiei
1. interacţie hidrofobă	hidrofobicitate	coeficient de repartiţie octanol-apă
2. interacţie electrostatică ion-ion ion-dipol dipol-dipol	 sarcina pe atomi sarcina pe atomi sarcina pe atomi	 sarcina/const. Hammett sarcina/const. Hammett sarcina/const. Hammett
3. interacţie prin legături de hidrogen	sarcina pe atomi	sarcina/const. Hammett
4. interacţie prin legături van der Waals	polarizabilitate	refracţia molară
5. impiedicare sterică	dimensiunile moleculelor	raza van der Waals/const. Taft
5. interacţie bazată pe legătura covalentă	mezomerism	const.Hammett/constantele vitezei de reacţie

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Din punct de vedere al tipului de interacţie toxic-receptor, în literatură substanţele toxice au fost împărţite în două categorii [15,21]:

1. toxice care exercită o acţiune nespecifică acţionând în general ca inhibitori ai funcţiilor fiziologice; acest tip de acţiune este numită toxicitate *fizică,* efect narcotic, nespecificitate structurală sau activitate neselectivă. Toxicitatea fizică nu este asociată cu interacţii specifice ale toxicelor cu receptorii sistemelor biologice. Toxicitatea fizică este caracteristica unor neelectroliţi şi este raportată la diverse proprietăţi fizice ale toxicului ca de ex. solubilitatea vaporilor în apă, coeficientul de distribuţie ulei / apă etc.
2. toxice care exercită o acţiune specific *chimică* ce se manifestă prin reacţiile lor specifice cu receptorii sistemelor biologice.

Acţiunea toxică a celor mai multe substanţe include atât o toxicitate fizică, nespecifică cât şi o toxicitate specifică, chimică.

3.1.2.2.4. Structura electronică

Aplicarea rezultatelor chimiei cuantice pentru stabilirea corelaţiilor între structura moleculară şi activitatea biologică (toxicitatea) a poluanţilor chimici reprezintă astăzi o metoda tot mai frecvent utilizată în toxicologie.

Utilizand diverse metode cuantice de calcul, în funcţie de complexitatea sistemului studiat precum şi de limitele impuse de puterea calculatoarelor, s-au calculat energiile nivelelor electronice şi distribuţiile electronilor în moleculă precum şi diferiţi parametri de reactivitate chimică pentru un număr mare de substanţe chimice implicate în sistemele biologice.

Parametrii electronici au fost corelaţi în cazul poluanţilor atmosferici cu proprietăţi cum sunt efectul mutagen, cancerigen şi embriotoxic. Cele mai multe date existente se referă însă la efectul cancerigen. Astfel, analiza datelor de literatură arată că pentru explicarea activităţii cancerigene a hidrocarburilor policiclice condensate cea mai răspândită teorie chimică este *teoria regiunilor diferenţiate d.p.d.v. al reactivităţii* elaborată de soţii Pullman (fig. 3.7) [4,29,30] Conform teoriei Puliman, în structura acestor compuşi sunt implicate două regiuni:

- regiunea k, care este cea mai reactivă regiune a hidrocarburii cancerigene şi prin care trebuie să se stabilească o legătură covalentă între hidrocarbură şi receptor. Această regiune se defineşte ca fiind legătura C-- C cu cel mai mare ordin de legătura π şi cei mai mari indici de valentă liberă la atomii de la capetele acestei legături. Această regiune condiţionează apariţia activităţii cancerigene.

- regiunea L, micsorează sau anulează efectul regiunii k şi se defineşte ca fiind formată de perechea de atomi de carbon în para cu cea mai mare afinitate pentru reacţiile de adiţie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

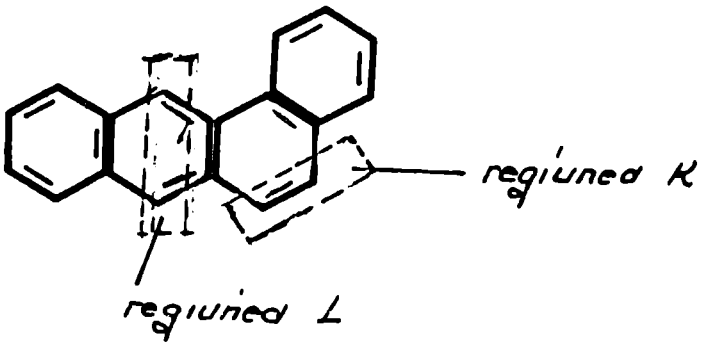


Fig. 3.7. Regiunile k şI L pentru benzantracen.

Pentru caracterizarea reactivităţii zonei k se utilizează doi indici electronici:

1. suma indicelui de legătură π şi a indicilor de valentă liberă a celor doi atomi de carbon de la capetele legăturii (notată convenţional R_K);

2. al doilea indice se aplică pentru ambele regiuni şi este dat de suma energiei de localizare a electronilor π la atomii legăturii date şi a energiei de localizare a legăturii π a atomilor respectivi (se notează convenţional cu EL_K, respectiv EL_L).

Regiunea k pentru hidrocarburile aromatice policiclice se caracterizează printr-o valoare a lui R_K care nu depăşeşte limita 1,28 şi printr-o valoare a indicelui EL_K sub 3,31. Astfel s-a putut explica de ce 1,2-benzantracenul (R_K=1,283) are activitate cancerigenă mai mare decât 8-metil-3,4-benzfenantrenul (R_K=1,309).

Dacă indicele de energie de localizare pentru regiunea L depăşeşte valoarea 5,66 β, activitatea cancerigenă a substanţei dispare complet.

Pentru unii derivaţi ai hidrocarburilor policiclice condensate substituiţi în regiunea k (ca de ex. 4-fluor-10-metil-1,2 benzantracen) nu se mai constată o bună corelaţie a valorilor indicilor electronici R_K şi EL_K cu efectul cancerigen [31].

Pentru coloranţii azoici şi derivaţii stilbenului cu proprietăţi cancerigene (cum este de ex. dimetilbenzantracenul), regiunea k este reprezentată de gruparea –N=N- sau –HC=CH- care leagă între ele cele două cicluri aromatice (fig. 3.8).

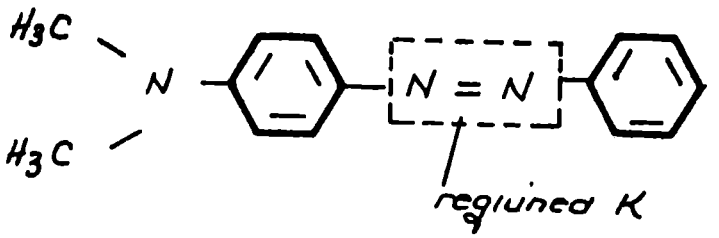


Fig. 3.8. Regiunca k pentru dimetilbenzantracen.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Reactivitatea grupei – N = N – este exprimată de parametrul electronic EP ce caracterizează energia sistemului π-electronic al celor doi atomi de azot. Totuşi o bună corelaţie între indicele EP şi activitatea cancerigenă s-a constatat numai la cei 5 derivaţi metilsubstituiţi ai ciclurilor benzenice [32].

Unii autori [33, 34] au emis teoria că potenţialul cancerigen depinde de *proprietăţile redox* ale substanţei cancerigene (capacitatea de acceptare / donare de electroni). Această teorie este în concordantă cu teoria metabolică [35] care consideră că substanţele cancerigene inhibă lantul transferului de electroni în procesul fosforilării oxidative. Astfel, sunt favorizate celulele care isi procură o cantitate cât mai mare de energie prin glicoliză ; în cursul unor procese naturale de proliferare sunt selectate aceste celule cu caracteristici metabolice specifice pentru celulele canceroase. Usurinta donarii şi acceptarii de electroni (care se caracterizează printr-un potenţial polarografic de oxidare E^{OX} cât mai puţin pozitiv şi un potenţial de reducere E^{RED} cât mai puţin negativ) se corelează destul de bine cu activitatea cancerigena.

In tabelul 3.9 sunt prezentaţi unii indici electronici de reactivitate şi potenţialul cancerigen pentru unele hidrocarburi şi azoderivaţi [30].

Tabel 3.9. **Valorile R_K, EL_K, EP şi potentialul cancerigen al unor toxici industriali**

Compus	Activitate Cancerigenă	R_K ; EP*	EL_K (unităţi)	EL_L (β)	E^{OX} (volţi)	E^{RED} (volţi)
1,2-Benzantracen	+ +	1,283	3,29	5,53	1,33	- 2,11
3,4-Benzacridina	-	1,260	-	-	-	-
Azobenzen	-	-	-	-	1,89	- 145
p-Dimetil-aminoazo-benzen	+ +	- 0,670*	-	-	0,86	- 1,58
2-Metil-p-dimetil-aminoazobenzen	_	- 0,675*	-	-	0,80	- 1,60
3'-Metil-p-dimetil-aminoazobenzen	+ + +	-0,748*	-	-	-	-
3'-Metoxi-p-dimetil-aminoazobenzen	+ + +	-0,670*	-	-	-	-
3'-F-p-dimetil-aminoazobenzen	+ + +	-0,670*	-	-	0,90	-1,50
1,2-Benzpiren	+ + + +	-	3,23	-	1,10	-1,95

Aspecte ale relaţiei structură chimică – activitate mutagenă / cancerigenă au fost studiate şi pentru alte clase de compuşi ca de ex. olefine halogenate, epoxizi şi analogi alchilici [36], halogenuri de alchil [37], hidrazine [38] şi nitrozamine [39].

Monoepoxizii alifatici cu epoxid terminal sunt suspectaţi a avea potenţial mutagen / cancerigen.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Prezenţa unei grupe funcţionale reactive (cazul epiclorhidrinei) sau a unei duble legături (cazul glicilaldehidei) lângă gruparea epoxi , sporeşte caracterul cancerigen al grupei epoxi. Toate etilenele clorurate sunt metabolizate în epoxizi, în prima treaptă.

Activitatea mutagenă / cancerigenă a olefinelor clorurate diferă substanţial. Pentru olefine cu atomi de clor situaţi asimetric, activitatea cancerigenă variază astfel: clorura de vinil > 1,1-dicloretilena > tricloretilenă. În olefinele cu atomi de clor situaţi simetric, această activitate nu a fost observată [40].

Se presupune că analogii etilenici, vinilici şi alchilici pot fi potenţial cancerigeni deoarece sunt, ca şi compuşii aromatici, transformaţi în oxizi cu ajutorul monooxigenazelor microzomale.

Agenţii bifuncţionali de alchilare manifestă proprietăţi cancerigene mai pronunţate comparativ cu cei monofuncţionali, datorită simetriei lor care le conferă o reactivitate crescută (de ex. bis (clormetil) eterul în comparaţie cu izomerul sau, clormetilmetil eterul).

Deşi până în prezent nu se cunosc exact caracteristicile structurale responsabile de activitatea mutagenă / cancerigenă a unei substanţe, totusi se poate concluziona că pentru ca o hidrocarbură aromatică policiclică să aibă proprietăţi cancerigene aceasta trebuie să aibă o *geometrie apropiată de perechile de baze ale acizilor nucleici, o grosime moleculară sub 4 Å* şi *o bună capacitate de a accepta / ceda electroni*. De asemeni, activitatea cancerigenă este favorizată dacă substanta considerată sau unul din metaboliţii acesteia are *caracter electrofil*, fiind astfel capabilă să reacţioneze cu centrii nucleofili ai macromoleculei ADN.

O serie de lucrari au studiat posibilele corelaţii între structura electronică şi toxicitatea halogeno-benzenilor. Astfel, Pederson şi Carlson [41] consideră că mecanismul producerii porfiriei cutanate de către hexaclorbenzen se bazează pe formarea unui complex cu transfer de sarcină între hexaclorbenzen şi compuşii porfirinici, formarea acestuia fiind favorizată de dimensiunile moleculare asemanatoare ale celor doi compuşi, polarizabilitatea lor pronuntată şi structura plană a acestora.

O contribuţie importantă la studiul corelaţiei structura electronică – activitate biologică în cazul derivaţilor cloruraţi ai benzenului au adus-o Sahini şi colab. [42]. Folosind metodele Hűckel şi SCF-CI în aproximaţia semiempirică Pariser-Parr-Pople, autorii au calculat un set de parametri de structură electronică unitar şi consistent (densităţi de sarcină π, densităţi de sarcină σ, energia primului orbital molecular liber, densitatea electronului de frontieră pentru reacţiile de substituţie electrofilă, nucleofilă şi radicalică, superdelocalizabilitatea pentru reacţiile de substituţie electrofilă, nucleofilă şi radicalică şi autopolarizabilităţile atom-atom) pentru toţi derivaţii cloruraţi ai benzenului. Comparand aceşti indici de reactivitate cu datele din literatura de specialitate privind toxicitatea acestor compuşi (log DL_{50}) s-a găsit o bună

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

corelaţie între variaţia densităţii de sarcină pe atomul de clor şi log $1/DL_{50}$. De asemeni, sarcina atomului de carbon pe care este grefat halogenul se corelează liniar cu log $1/DL_{50}$. Autorii au constatat corelaţii între log $1/DL_{50}$ şi sarcina poziţiilor cu cea mai mare contribuţie în meta de la atomii de clor. S-a concluzionat că aceste corelaţii cu densităţile de sarcină în moleculă sugerează că interacţia între moleculele clorbenzenilor şi receptor ar putea fi în principal de natură electrostatică, fără transfer de sarcină.

3.2. PROPRIETĂŢI FIZICO-CHIMICE CARE DETERMINĂ EFECTELE BIOLOGICE ALE PULBERILOR INDUSTRIALE

3.2.1. Pulberi silicogene

3.2.1.1. Mărimea şi proprietăţile adsorbtive ale particulelor

Este unanim acceptat că bolile profesionale sunt produse numai de particulele de pulberi care patrund şi sunt reţinute în alveole.

Pentru orice tip de pulbere (silicogenă, de azbest, metalică, organică etc.) au fost formulate definiţii pentru diferitele fracţii care patrund în aparatul respirator. Aceste definiţii sunt valabile atât pentru pulberile prezente în aer sub formă de particule, cât şi pentru cele aflate sub formă de fibre, deoarece aceste definiţii sunt formulate în termeni de particule (adică dimensiunea acestora este caracterizată de diametrul aerodinamic). Astfel, în conformitate cu ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) şi Comitetul European pentru Standardizare (EN 481 / 1993) [43, 44, 45, 46] aceste definiţii sunt următoarele:

- fracţia *inhalabilă* de praf corespunde fracţiei total inspirabile şi reprezintă cantitatea de pulberi cu risc pentru sănătate atunci când acestea sunt reţinute oriunde în aparatul respirator;
- fracţia *toracică* de praf reprezintă cantitatea de pulberi cu risc pentru sănătate la reţinerea lor în aparatul respirator în regiunea bronsiilor mici;
- fracţia *respirabilă* de praf reprezintă cantitatea de materiale cu risc pentru sănătate atunci când sunt reţinute în regiunea neciliată a schimbului de gaze (alveole).

Au fost de asemeni definite eficienţa de reţinere a unui dispozitiv de recoltare şi curbele de reţinere pentru aceste trei fracţii de praf.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Eficienţa de recoltare a unui dispozitiv a fost definită ca fiind fracţiunea de particule reţinute pe filtru, indiferent de orientarea filtrului faţă de direcţia curenţilor de aer şi este dată pentru *fracţia inhalabilă* de relaţia [44, 47, 48] :

$$E_i = 50(1+e^{-0,06d_a}) \pm 10 \quad (3.13)$$

unde : E_i=eficienţa de colectare (%) pentru fracţia inhalabilă

d_a=diametrul aerodinamic al particulelor (μm) definit ca fiind diametrul unei sfere cu densitatea, unitatea având aceeaşi viteza limită de cadere liberă în câmp gravitaţional ca şi particula studiată

Pentru *fracţia toracică* eficienta de recoltare, E_t, este dată de relaţia :

$$E_t = E_i[1-F(x)] \quad (3.14)$$

unde F(x)=funcţia de probabilitate cumulată a variabilei normale standardizate x

$$x = \frac{\ln(d_a / D)}{\ln s} \quad (3.15)$$

cu D=11,64 μm şi s=1,5

Pentru *fracţia alveolară* eficienta de recoltare, E_a, este dată de relaţia :

$$E_a = E_i[1-F(x)] \quad (3.16)$$

unde F(x) şi x au aceeasi semnificaţie ca în cazul fracţiei toracice, iar D=4,25 μm şi s=1,5.

Curbele teoretice de reţinere pe filtre recomandaţe de ACGIH sunt caracterizate de o eficientă de reţinere de 50% la diametrul aerodinamic de 10±1 μm pentru fracţia toracică şi de 4±1μm pentru fracţia respirabilă ; eficienţa de reţinere a prafului respirabil este zero la valoarea de peste 10 μm a diametrului aerodinamic (tabelul 3.10) [44,49].

Tabel 3.10. **Curbele teoretice de reţinere pe filtre pentru cele trei fracţii de praf : respirabilă, toracică şi inhalabilă**

Diametrul aerodinamic al particulelor (μm)	Praf inhalabil (%)	Diametrul aerodinamic al particulelor (μm)	Praf toracic (%)	Diametrul aerodinamic al particulelor (μm)	Praf respirabil (%)
0	100	0	100	0	100
1	97	2	94	1	97
2	94	4	89	2	91
5	87	6	80,5	3	74
10	77	8	67	4	50
20	65	10	50	5	30
30	58	14	23	6	17
40	54,5	16	15	7	9
50	52,5	18	9,5	8	5
100	50	25	2	10	1

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

OSHA (Occupational Safety and Health Administration) recomandă o curbă de reţinere pentru care eficienta de reţinere pentru fracţia respirabilă să fie zero începând de la o valoare a diametrului aerodinamic de 15 μm [50, 51, 52] ; în schimb Convenţia de la Johanesburg (1959) recomandă ca eficienta de reţinere a prafului respirabil să fie 50% pentru un diametru aerodinamic de 5 μm şi zero pentru valoarea de peste 7 μm a diametrului aerodinamic [53,54].

După ISO (International Standards Organization) [55] eficienta de reţinere a prafului respirabil este zero la o valoare a diametrului aerodinamic de peste 7 μm.

Recent s-a realizat un acord între ACGIH şi Convenţia Europeană definindu-se cele trei fracţii de praf astfel [57,58] :

- fracţia inhalabilă cuprinde particule cu diametrul aerodinamic între 1-100 μm ;
- fracţia toracică cuprinde particule cu diametrul aerodinamic între 0,1-35 μm ;
- fracţia respirabilă cuprinde particule cu diametrul aerodinamic între 0,1-15 μm.

In conformitate cu recomandarile ACGIH şi ale Comitetului European pentru Standardizare, se poate concluziona că eficienta de reţinere a prafului respirabil este sub unu la o valoare a diametrului aerodinamic de 10 μm (cu alte cuvinte, particulele de praf respirabile trebuie să aibă o valoare a diametrului aerodinamic sub 10 μm).

Asa cum s-a amintit mai sus, diametrul aerodinamic al particulelor guvernează atât patrunderea cât şi reţinerea (depozitarea) acestora în aparatul respirator.

Depozitarea pulberilor în tractul respirator se bazează pe 5 principii fizice : impact, sedimentare, precipitare electrostatică, interceptare şi translocare [55].

Posibilitatea de *impact şi sedimentare* este determinată de diametrul aerodinamic al particulelor ; impactul în general are loc la limita inferioară a unui jet de aer în caile aeriene superioare unde viteza curentului de aer este mai mare, iar particula este propulsată în afara curentului, pe suprafata epiteliului respirator, mai ales la nivelul bifurcaţiilor. În schimb, sedimentarea este favorizată de viteza scazută a curentului de aer, de un timp de staţionare mai lung în caile pulmonare inferioare şi de dimensiunea mică a acestor căi.

Precipitarea electrostatică depinde de raportul între sarcina electrică a particulelor de pulberi şi traseul parcurs de acestea în caile aeriene.

Interceptarea depinde de aliniamentul particulelor axei de curgere de-a lungul unei cai aeriene : o particulă a carei orientare de curgere diferă de aliniamentul axial are o probabilitate sporită de depunere prin interceptare. Particulele singulare tind a se alinia axei de curgere, în timp ce aglomerarile de particule au mai mult orientari randomizate. Aliniamentul este modificat la bifurcaţii dat fiind curentul secundar format, ceea ce sporeşte posibilitatea de depozitare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Translocarea se referă la miscarea particulelor de-a lungul suprafeţelor epiteliale pentru a se depozita la nivelul bronsiilor, sau la pătrunderea prin epiteliu în interstiţiul pulmonar şi căile limfatice.

Din cele relatate, reiese şi importanţa altor proprietăţi fizico-chimice implicate în pătrunderea pulberilor în aparatul respirator şi anume încărcătura electrică. *Sarcina electrică* a particulelor se datoreşte fie adsorbţiei ionilor existenţi în atmosferă fie încărcăturii electrostatice rezultate prin frecare în procesul formării pulberilor.

Proprietăţile *adsorbtive* ale pulberilor se manifestă şi fată de gaze, fapt ce are importantă asupra diferitelor reacţii chimice din organism (mai ales atunci când gazele adsorbite sunt toxice)

3.2.1.2. Structura cristalină

Numai formele cristaline ale SiO_2 liber (nelegat în silicaţi) sunt silicogene. Dintre formele cristaline, cele mai agresive sunt cuartul, tridimitul şi cristobalitul (în ordinea descrescândă a puterii fibrogene) [57].

3.2.1.3 Structura electronică

Elementul fundamental în declanşarea şi intreţinerea procesului silicotic îl reprezintă fagocitarea particulei de SiO_2 de către macrofagul pulmonar, urmată de necroză (moartea) acestuia cu eliberarea particulei de SiO_2, care apoi este înglobată de alt macrofag s.a.m.d.

In ultimii ani au apărut tot mai multe cercetari care au studiat mecanismul interacţiei primare între macrofag şi particulele de SiO_2, încercând să arate care sunt proprietăţile SiO_2 responsabile de efectul lui citotoxic şi fibrogen.

O teorie electronică dezvoltată în ultimii ani – *teoria acţiunii catalitice a SiO_2 asupra membranelor celulare sau teoria semiconductorilor* a demonstrat existenţa unor relaţii între marimea efectului citotoxic al pulberilor silicogene şi activitatea catalitică a particulelor de SiO_2, care este determinată la randul ei de poziţia energetică a unor nivele electronice existente în structura SiO_2 [59, 60, 61, 62, 63, 64, 65].

Teoria semiconductorilor se bazează pe teoria electronică a catalizei care admite un model cu benzi al semiconductorilor (din care face parte şi SiO_2) (fig. 3.9).

In semiconductorii puri (ideali), numiţi şi intrinseci, în zona interzisă nu se găsesc electroni. În semiconductorii impuri (reali) numiţi şi extrinseci, în zona interzisă se găsesc impurităţi reprezentate de ioni metalici sau goluri; prezenta ionilor metalici sau a golurilor se traduce prin inducerea unor nivele electronice adiţionale în zona interzisă situate în vecinatatea benzii de valentă şi a benzii de conducţie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

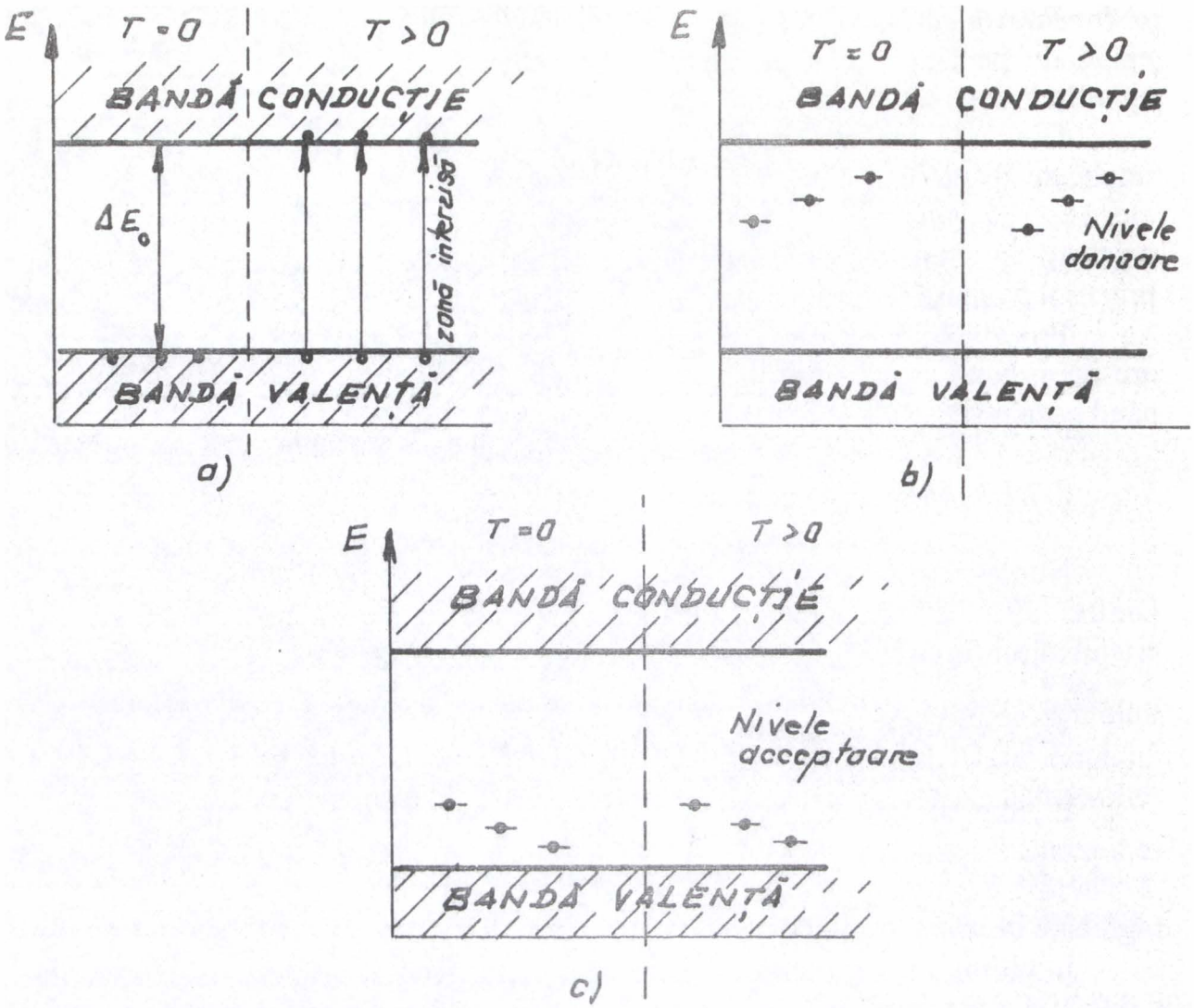


Fig. 3.9. a) Modelul benzilor din fizica stării solide; b) pentru semiconductori cu impurități de tip donor; c) și de tip acceptor.

In cazul rețelei cristalului de SiO_2 – element etiologic al silicozei – se constată că prezenta în rețea a ionilor metalici cu valență mai mare decât 4 (4 fiind valența atomului de siliciu) induce nivele electronice situate sub banda de conducție, numite nivele *donoare* (sau centri de captură electronica); prin excitarea electronilor din aceste nivele donoare, are loc cedarea de electroni în banda de conducție, electroni care prin deplasare asigură conductibilitatea (semiconductorii se numesc de tip n – negativi, cu conductibilitate normală, prin electroni) (fig. 3.9b). Prezenta ionilor metalici trivalenți în rețeaua SiO_2 se traduce prin prezenta unor nivele electronice *acceptoare* în zona interzisă situate deasupra benzii de valență; prin excitarea acestor nivele acceptoare, semiconductorul cedează electroni din banda de valență pe nivelele adiționale acceptoare, astfel că în banda de valentă rămân goluri, care, deplasându-se asigură conductibilitatea (semiconductorii se numesc de tip p – pozitivi, cu conductibilitate anormală prin goluri) (fig. 3.9c).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Cercetări din literatură [59, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67] au evidenţiat, în vitro, imediat după contactul particulei de SiO_2 cu membrana macrofagului pulmonar, un transfer de electroni de la particula de SiO_2 la membrana macrofagului (maximum de transfer este atins la 5 minute după contact). în urma acestui transfer se produce perturbarea reacţiilor biochimice la nivelul membranelor celulare (membrana macrofagului). Electronii care participă la transfer provin de pe nivelele electronice donoare ale particulei de SiO_2 şi necesită energii de activare de ordinul a 0,5 eV. Aceste energii ar putea proveni din reacţiile redox ale lantului de respiraţie celulară (porţiunea finală citocromică, adică complexul IV Green, unde există un transfer monoelectronic). Deci, macrofagul activează particula de SiO_2, activare care apoi induce un transfer de electroni de la particula de SiO_2 la membrana macrofagului, transfer care prejudiciază macrofagul.

Existenţa acestui transfer de electroni între SiO_2 şi membrana celulara s-a demonstrat prin masuratori de chemiluminiscentă [61, 67].

Compararea rezultatelor testelor de citotoxicitate cu marimea energiilor de activare ale centrilor de captură elctronică pe un numar de 60 probe de pulberi silicogene, de origini mineralogice diferite şi conţinut diferit în ioni metalici, a aratat că probele de praf ai caror centri de captură electronică au energii de activare de ordinul a 0,5 – 0,6 eV sunt puternic citotoxice; probele de praf cu energii mai mari sau mai mici decât această valoare au un efect de citotoxicitate mai mic [67].

Poziţia energetică a centrilor de captură electronică este determinată de originea mineralogică adică de condiţiile mecanice, termice şi radioactive de formare a pulberilor în rocile magmatice. Experimente în vitro au aratat că probele de origini mineralogice diverse au manifestat diferenţe considerabile privind marimea efectului citotoxic. Mai mult, poziţia energetică a centrilor de captură electronică poate fi influienţată printr-un tratament chimic (cu soluţie fierbinte de NaOH de ex.), termic sau mecanic [64]. Aceste studii sugerează posibilitatea modificării acţiunii fibrogene a pulberilor în timpul procesului de muncă prin diferite operaţii tehnologice la care sunt supuse.

Această teorie a putut explica lipsa corelaţiei întalnită în multe cazuri între conţinutul în SiO_2 şi capacitatea citotoxică şi implicit fibrogenă a pulberilor silicogene. Astfel:

- s-a explicat citotoxicitatea mult diferită a pulberilor cu acelasi conţinut în SiO_2, dar de origini mineralogice sau cu pretratamente diferite. De ex. două pulberi cu conţinut de 100% α-cuart au prezentat un comportament foarte diferit citotoxic şi fibrogen [66]. Acest fapt a fost explicat după efectuarea masuratorilor de chemiluminiscentă care au aratat valori diferite pentru energiile de activare ale centrilor de captură electronică [66];

- într-un studiu efectuat pe 39 probe de pulberi cu conţinut asemanator în SiO_2 (cuprins între 84-95%), dar cu conţinut diferit în ioni metalici, s-a

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

constatat, în experimente în vitro, o citotoxicitate foarte diferită variind între 30% şi 80% mortalitate celulara.S-a gasit în schimb o bună corelaţie între marimea efectului citotoxic şi energia de activare a centrilor de captură electronică [67];

- s-a putut explica de ce unele probe de praf cu o concentraţie foarte mică în SiO_2 (0,2%) au un efect puternic citotoxic şi fibrogen şi anume s-a constatat prezenta centrilor de captură electronică cu energii de ordinul a 0,5 eV [64].

Această teorie, stabilind o corelaţie între marimea efectului citotoxic şi / sau fibrogen şi energia de activare a centrilor de captură electronică ai particulelor de SiO_2, poate permite evaluarea efectului biologic al unei pulberi prin masurarea valorilor energiilor de activare ale centrilor de captură electronică deci o evaluare a efectului biologic din masuratori de structură electronică a particulelor de SiO_2. De asemeni, această teorie sugerează posibilitatea stabilirii limitelor de expunere a pulberilor industriale în aerul locurilor de muncă luand în consideraţie energia de activare a centrilor de captură electronică ai particulelor şi nu conţinutul în SiO_2 (sau nu numai conţinutul pulberilor în SiO_2).

3.2.2. Pulberi de azbest

Cercetările privind proprietăţile şi mecanismele care determină efectele biologice ale azbestului în vitro (citotoxicitate, hemoliza) şi în vivo (fibrogenitate, activitate mutagenă, cancer) au fost îngreunate pe de o parte de existenţa mai multor tipuri de azbest (crizotil şi cinci varietăţi de amfiboli: crocidolit, amozit, tremolit, actinolit şi antofilit) iar pe de altă parte de imposibilitatea de a stabili relaţii clare şi generice doză – raspuns. Aceasta s-a datorat în primul rand faptului că nu s-a putut stabili cu certitudine proprietatea (sau proprietăţile) cea mai importantă a fibrelor care iniţiază raspunsuri patologice. De asemeni, s-au stabilit corelaţii variabile între efectele pe termen scurt, "in vitro" şi efectele pe termen lung, "in vivo" [56, 68]. Nu este bine stabilit dacă azbestul exercită efecte genetice directe, similar carcinogenilor chimici iniţiatori, sau dacă acţionează numai drept cocancerigen (promotor).

Proprietăţile pe care studiile recente le consideră factori primari, determinanţi ai efectelor biologice ale azbestului sunt : dimensiunile fibrelor, sarcina electrică de suprafaţă, solubilitatea (dezintegrarea) fibrelor în mediile biologice şi activitatea catalitică a suprafeţei fibrelor [56, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89].

3.2.2.1. Dimensiunile şi morfologia fibrelor

Aşa cum s-a arătat în cap. 3.2.1.1. diametrul aerodinamic al particulelor fibroase de azbest determină posibilitatea de impact şi sedimentare a acestora în căile respiratorii.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Capacitatea pulberilor de azbest de a induce fibroza ori cancer a fost corelată cu *dimensiunile* fibrelor de azbest, astfel :

- producerea *azbestozei* a fost strans corelată cu suprafata totală a fibrelor reţinute în plămân, având lungimea 2 μm şi diametrul cuprins între 0,15-2 μm [56, 76, 79]. Astfel, Timbrell şi colab. [90] urmărind influienţa distribuţiei lungimilor şi diametrelor fibrelor de crocidolit, amozit şi antofilit asupra inducerii fibrozei în plamanul uman au observat o dependentă directă şi puternică între marimea suprafeţei totale a fibrelor reţinute şi gradul de fibroză explicand aceasta prin marimea interfeţei fibra-ţesut. Rezultate similare s-au raportat şi pentru crizotil [92]. Aceste studii au aratat că reţinerea fibrelor creşte rapid cu lungimea între 2-5 μm şi cu diametrul între 0,15-0,3 μm, înregistrandu-se un maxim la 0,5 μm şi scade când diametrul are valori între 0,8-2 μm ;

- apariţia *mezoteliomului* (cancerul pleurei pulmonare) s-a aratat a se corela strans cu numarul de fibre cu lungimea critică cuprinsă între 5-10 μm şi diametrul critic mai mic de 0,1 μm. Privind diametrul critic în inducerea mezoteliomului, un studiu efectuat asupra populaţiei de mineri din localitatea Paakkila (Africa de Sud) [91] a aratat corelaţia între distribuţia pe marime a fibrelor existente în aer şi incidenţa apariţiei mezoteliomului. În această localitate, norii de praf conţineau aproximativ 50 fibre / cm^3 aer cu o proporţie mare de diametre cuprinse între 0,5-3 μm şi în ciuda expunerii foarte mari nu s-a observat apariţia nici unui mezoteliom. Experimentele pe animale cu fibre din Paakkila au produs mezotelioame atunci când s-au utilizat doze de 10000 ori mai mari decât cele necesare inducerii mezoteliomului uman. Studiul a concluzionat că ar exista o bună corelaţie între distribuţia pe diametre şi apariţia mezoteliomului dacă s-ar considera drept limită critică superioară a diametrului în inducerea mezoteliomului valoarea de 0,1 μm. S-a constatat că azbestul din Paakkila conţine 1% fibre cu diametrul sub 0,1 μm, fapt care a explicat dozele mari necesare pentru inducerea mezoteliomului la animale.

Cercetarile lui Timbrell au putut astfel explica lipsa apariţiei mezoteliomului în experimentele pe animale efectuate utilizând fibre cu dimensiuni mari (1,5 μm Stanton 1981 ; 1 μm O.M.S. 1988 ; 0,25 μm Wagner 1986 şi Pooley 1980) [91, 93, 94, 95].

Privind lungimea critică în producerea mezoteliomului, o serie de studii [96, 97] au aratat că injectarea intraperitoneală de amozit scurt (1,7% fibre cu $l > 5$ μm) a produs numai un mezoteliom la 24 de sobolani , în timp ce amozitul UICC (11% fibre cu $l > 5$ μm, 2,5 % cu $l > 10$ μm) a produs 30 de mezotelioame la 32 de sobolani, iar amozitul lung (30% fibre cu $l > 5$ μm, 10% cu $l > 10$ μm) a produs 20 mezotelioame la 21 de şobolani. Lippmann [56] coreland rezultatele studiilor de mai sus, concluzionează că producerea mezoteliomului se corelează cu numarul de fibre reţinute în plaman cu lungimea între 5-10 μm şi diametrul mai mic de 0,1 μm.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- producerea *cancerului pulmonar* a fost strâns corelată cu prezenţa în plămân a fibrelor cu lungime peste 10 μm (dar sub 100 μm) şi diametrul peste 0,15 μm. Aceste dimensiuni sunt susţinute de o serie de studii inhalatorii efectuate pe animale [96, 97, 98, 99, 100, 101] care au arătat că fibrele scurte de amozit (1,7% fibre cu l > 5 μm) nu au produs cancer la şobolani, în timp ce fibrele lungi de amozit (30% fibre cu l > 5 μm, 10% cu l > 10 μm) au produs 8 cancere la 40 de şobolani ; fibrele de tremolit (28% fibre cu l > 5 μm, 7% cu l > 10 μm) au produs 18 cancere la 39 de şobolani. Nu au fost obţinute diferenţe semnificative între numărul de tumori induse de fibrele scurte şi lungi de crizotil. Deoarece fibrele mai subţiri sunt mai usor translocate spre pleură şi peritoneu, acestea au un rol minor în carcinogeneza pulmonară. De aceea, riscul real pentru cancerul pulmonar este asociat cu numărul fibrelor cu lungime peste 10 μm şi diametrul peste 0,15 μm.

Caracteristicile *morfologice* ale fibrelor prezintă importanţă pentru reţinerea acestora în caile respiratorii. Amfibolii fiind formaţi din fibre drepte, tind a se alinia axei de curgere în caile respiratorii. În schimb, fibrele curbate de crizotil ating pereţii laterali ai căilor respiratorii, putând fi reţinute mai usor la bifurcaţii. Bifurcaţiile cailor aeriene au constituit locurile iniţiale unde a fost observat prejudiciul celular în expunerea la crizotil [103].

3.2.2.2. Solubilitatea în mediile biologice

Solubilitatea se referă la digestia parţială (uneori totală) a componentelor fibrelor în organism (rezultand fibre mai poroase) cu sau fară modificarea dimensiunilor şi a sarcinii de suprafată a fibrelor. Fibrele de crizotil se pot defibrila în fibrile, fapt care facilitează dezintegrarea lor ; amfibolii suferă mult mai puţine modificări dimensionale sau structurale prin dezintegrare în timpul retenţiei pulmonare. Astfel, Bellmann şi colab. [102] au instilat plamanul de sobolan cu suspensie de crocidolit şi crizotil şi au examinat fibrele reziduale pulmonare după o zi, 1, 6, 12 şi 15 luni, observând că numărul de fibre de crocidolit nu au scăzut timp de un an; numărul fibrelor de crizotil cu l > 5 μm s-a dublat datorită clivarii longitudinale.

Roggli şi Brody [103] au expus şobolani la aerosoli de crizotil şi au arătat că eliminarea fibrelor a fost asociată cu modificari dimensionale. Când şobolanii au fost expuşi la fibre de crocidolit nu s-a observat modificarea diametrului acestora.

Intr-un alt studiu [104] s-a constatat că într-o fabrică de azbociment, concentraţia diferitelor tipuri de fibre de azbest în azbociment era urmatoarea : 91,7% crizotil, 3,1% amozit, 4,1% crocidolit şi 1,1% antofilit. Analiza microscopo-electronică a probelor de ţesut pulmonar obţinute de la muncitorii decedaţi a aratat un raport invers între concentraţiile crizotilului şi amfibolilor .

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

0-9% crizotil şi 77-99% amfiboli, datorită procesului de solubilizare diferenţiată al fibrelor de azbest în ţesutul pulmonar.

Solubilitatea fibrelor de azbest în organism a fost demonstrată şi de studiile care au evidenţiat fibre de azbest parţial degradate în urina muncitorilor expusi [105, 106].

Instabilitatea crizotilului în vivo se datoreşte pierderii magneziului structural (crizotilul este un silicat de magneziu hidratat, cu formula generală $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$, având grupe de hidroxid de magneziu pe suprafata exterioară a fibrelor) asa cum s-a observat pe fibre izolate din plamanul uman şi din culturi de macrofage alveolare de iepure [107].

Ionii de magneziu de pe suprafata fibrelor au un rol important pentru citotoxicitatea şi carcinogenitatea fibrelor [108].

In schimb crocidolitul [varietate din seria amfibolilor, cu formula generală $Na_2Fe_5Si_8O_{22}(OH)$], se dizolvă mult mai greu în lichidele biologice, dar prin conţinutul în ioni Fe^{2+} şi Fe^{3+} catalizează o serie de reacţii producatoare de radicali liberi implicaţi în carcinogeneza indusă de acest mineral (v. cap. 3.2.2.4) [109].Viteza de dizolvare, depinzand de pH-ul mediului, este diferită în mediul extracelular şi intracelular. De asemeni, viteza de dizolvare depinde de dimensiunile şi compoziţia chimică a fibrelor.

Solubilizarea azbestului în organism reprezintă un factor important care determină procesele de reţinere şi acumulare în organism şi de asemeni influenţează procesele de migrare ale fibrelor din plaman în alte organe şi ţesuturi ; astfel, procesul de solubilizare poate modifica serios potenţialul patogenic al azbestului.

3.2.2.3. Sarcina electrică

Crizotilul are un potenţial zeta al suprafeţei de +44,5 mV la pH=7,4 iar amfibolii au o valoare a potenţialului zeta de –43,5 mV la pH=7,4 [70, 110].

Sarcina electrică a pulberilor de azbest are importantă în primul rand pentru procesele de patrundere şi reţinere a acestora în caile respiratorii. În al doilea rand, sarcina electrică reprezintă factorul determinant în exercitarea activităţii catalitice a azbestului în vivo : fibrele având sarcină electrică exercită atracţii electrostatice atunci când se află în vecinătatea macromoleculelor, atracţii ce au drept rezultat contactul şi adsorbţia macromoleculelor pe suprafata acestora. Adsorbţia chimică conduce la reacţii de transfer electronic între fibră şi macromolecula adsorbită. Potenţialul electric al suprafeţei fibrelor putându-se modifica în vivo ca urmare a procesului de solubilizare al fibrelor, determină implicit modificarea capacităţii de adsorbţie a azbestului şi a activităţii catalitice a acestuia [70, 111].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2.2.4. Activitatea catalitică

Proprietăţile adsorptive ale fibrelor minerale studiate în corelaţie cu efectele biologice, au condus la ipoteza azi larg acceptată că activitatea catalitică a fibrelor minerale joacă un rol cheie în exercitarea efectelor biologice [112, 113, 114, 115, 116]. Activitatea catalitică rezidă în prezenta *centrilor activi donori de electroni* pe suprafata fibrelor ; aceştia pot fi centri *reducatori* (sau donori de un electron) şi *bazici* (sau donori de doi electroni) [117, 118, 119, 120]. Centrii reducători şi bazici sunt în principal grupe OH slab coordinate, localizate la marginea cristalului şi grupe OH externe, care au sarcina negativă datorită substituţiilor izomorfe sau golurilor cationice din reţeaua cristalină [117, 118].

Numarul de centri bazici existenţi pe suprafaţa crizotilului determinat de Bonneau şi colab. [121] prin trei metode (reacţia de schimb a grupelor OH prin ioni fluorură, reacţia de adiţie cu molecule de dioxid de carbon şi reacţia de condensare cu acid benzoic) a variat între 0,3-3 / nm^2 (în funcţie de caracterul mai mult sau mai puţin acid al reactivului utilizat şi de originea crizotilului).

Activitatea catalitică a suprafeţei fibrelor de crizotil şi crocidolit a fost investigată şi evidenţiată "in vitro" prin studiul interacţiei acestor varietăţi de azbest cu diferiţi compuşi biologici. Astfel, studiul interacţiei între albumină (proteină majoritară a serului sanguin, ce funcţionează drept transportor al unor substanţe endogene şi exogene în organism) şi fibrele de crizotil şi crocidolit a confirmat prezenta centrilor activi externi şi interni de tip bazic (OH) pe suprafata fibrelor. De asemeni s-a evidenţiat existenţa unor interacţii de tip fizic azbest-albumină care implică grupe OH ale azbestului şi grupe NH ale albuminei, stabilindu-se legături de hidrogen mixte de tipul O-H...$N_{albumină}$ sau O...H-$N_{albumină}$ [86, 88].

Interacţii de tip fizic şi chimic au fost evidenţiate în vitro şi în cazul interacţiei azbest-hemoglobină. Adsorbţia hemoglobinei pe azbest implică grupe CO şi NH ale hemoglobinei şi grupe OH polimer şi Si-O ale azbestului (apariţia interacţiilor între cei doi compuşi determină blocarea centrilor activi de pe suprafata azbestului) [122].

Intre azbest şi creatinină se stabilesc interacţii fizice şi chimice ce implică grupe OH polimer, Si-O şi octaedrii de Mg ai azbestului şi grupe CO şi CH_2 ale creatininei; între azbest şi γ-globulină interacţiile sunt de natură chimică conducand la distrugerea în mare masură a legăturilor peptidice, fiind implicaţi octaedrii de Mg ai azbestului [87].

O serie de cercetari în vivo şi în vitro [123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133] au demonstrat adsorbţia macromoleculei ADN pe azbest, urmată de prejudicierea ADN şi modificarea activităţii enzimatice a ADN-azei. Aceste studii au relevat capacitatea potenţial mutagenă a fibrelor de azbest, dar nu este clar mecanismul prin care azbestul prejudiciază macromolecula ADN. Studii în vitro [89] au arătat existenţa unor interacţii slabe, de natură fizică crizotil-ADN şi a unor interacţii puternice, chimice crocidolit-ADN, care implică grupe NH, CO şi fosfat ale ADN şi grupe Si-O ale crocidolitului. Se stabilesc legături de hidrogen în ambele cazuri.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Alte studii [124, 125, 135, 136, 137, 138, 139] au postulat că Fe(II) şi / sau Fe(III) din azbest poate fi mobilizat în vivo de diferiţi chelatori cu masă moleculară mică (citrat) şi în prezenta diferiţilor agenţi reducatori (ascorbat, cisteină sau glutation) prin reacţie Fenton, generează specii de oxigen reactiv care prejudiciază materialul genetic. Este cunoscut că toate tipurile de azbest conţin fier, fie ca un constituent structural, fie ca impuritate. De ex. amfibolii (crocidolitul şi amozitul) conţin aproximativ 27% fier, în timp ce conţinutul în fier al crizotilului este de numai 2-6% [140]. Reacţia principală în care este implicat fierul din azbest este numită reacţie Fenton (ec. 1), în care ionii ferosi sunt oxidaţi de H_2O_2 la ioni ferici; aceştia pot fi redusi din nou la ioni ferosi de către superoxid sau alţi agenţi biologici reducatori (ec. 2). Procesul global (ec. 1-3), numit şi reacţie Haber-Weiss catalizată de Fe, constă în convertirea H_2O_2 în radicali hidroxil. În plus, fierul poate cataliza şi formarea radicalilor alcoxil din hidroperoxizi organici (ec. 4). Studiile menţionate mai sus arată că fierul din azbest participă în unele sau toate aceste reacţii:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + HO^{\cdot} \quad (1)$$

$$Fe^{3+} + O_2^{\cdot-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2 \quad (2)$$

$$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \xrightarrow{\text{fier}} HO^- + HO^{\cdot} + O_2 \quad (3)$$

$$Fe^{2+} + ROOH \rightarrow Fe^{3+} + RO^{\cdot} + HO^- \quad (4)$$

Prejudiciul macromoleculei ADN de către azbest a fost explicat în unele cercetari [70] pe baza *teoriei electronice* a catalizei care este valabilă atât pentru semiconductori cât şi pentru dielectrici (azbest). În explicarea carcinogenezei chimice, teoria electronică consideră că o substantă cancerigenă (azbest) determină un transfer de electroni din banda de valentă a unei proteine sau molecula de ADN pe un nivel electronic liber al cancerigenului [141]. Pentru efectuarea transferului este necesar ca energiile nivelelor electronice implicate să aibă valori foarte apropiate.

In fig. 3.10 este prezentată schema energetică pentru transferul electronic între azbest şi macromolecula de ADN (pentru ambele substanţe, teoria electronică a catalizei admite modelul benzilor corpului solid) [70].

Poziţia energetică a nivelelor libere şi ocupate ale azbestului a fost evaluată de Robock şi Klösterkotter [142]. Când macromolecula ADN este adsorbită pe fibra de azbest are loc un transfer electronic de la ADN la azbest deoarece azbestul are nivele electronice libere cu energii cuprinse în domeniul energetic al celei mai înalte benzi ocupate a ADN. Acest transfer electronic conduce la modificari tautomere şi conformaţionale ale bazelor nucleotidice. Ca urmare, creşte probabilitatea apariţiei mutaţiilor deoarece, în procesul de replicare al ADN se va sintetiza baza pereche falsă (intr-o formă tautomeră, neuzuală). De asemeni, în urma transferului, apare o densitate de sarcină pozitivă în una din bazele azotate (deci o bază polarizată), în procesul de replicare sintetizandu-se baza pereche de asemeni polarizată aparand astfel forte de respingere electrostatice între aceste perechi de baze care duc la desfacerea pas cu pas a elicei moleculei de ADN.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

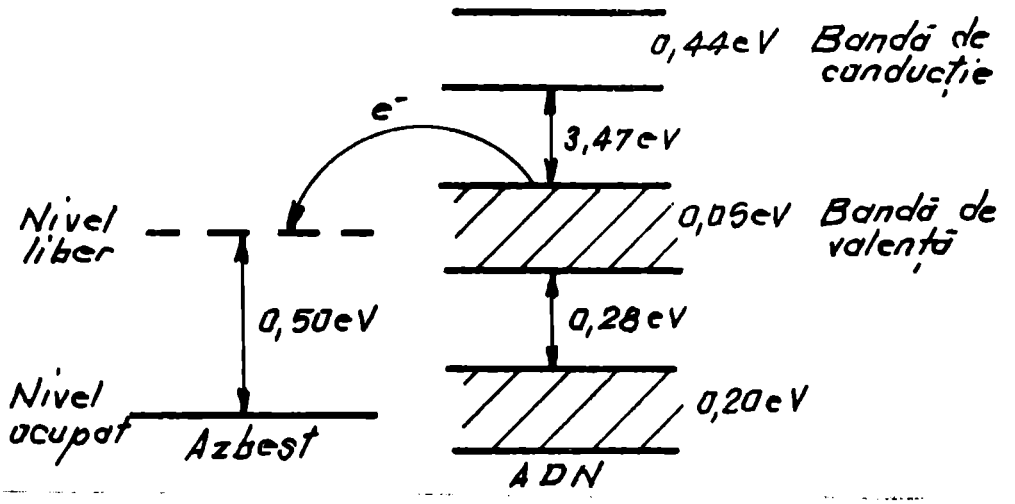


Fig. 3.10. Schem energetică pentru transferul electronic între azbest şi ADN (pentru molecula de ADN energiile au fost calculate de Hückel [70]).

Numeroase studii [143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151] au sugerat ca fierul conţinut în azbest catalizează peroxidarea lipidică a lipidelor membranelor celulare, proces care are drept rezultat apariţia de radicali liberi care prejudiciază materialul genetic. Astfel, Weitzman şi Weitberg [148] au produs peroxidarea lipidică într-o emulsie de fosfolipide şi au constatat că amozitul, crocidolitul şi crizotilul au stimulat acest proces; când varietăţile de azbest au fost prespalate cu desferoxiamină pentru a chela fierul, s-a constatat reducerea capacităţii azbestului de a cataliza procesul peroxidarii lipidice. Rezultate similare au fost obţinute de Turver şi Brown [143] care au studiat influenta crocidolitului asupra peroxidarii lipidice şi prejudiciului ADN în culturi de celule C3H-10T-1/2. Autorii au aratat creşterea vitezei peroxidarii lipidice în prezenta crocidolitului precum şi inhibarea semnificativă a acestui proces de către desferoxiamină şi au postulat rolul fierului conţinut în azbest drept catalizator al proceselor de peroxidare lipidică şi implicit al prejudicierii ADN.

Gulumian şi colab. [145, 146] au demonstrat ca o suspensie de 10 mg de crocidolit / ml catalizează rapid (5-10 min.) peroxidarea lipidică în microsomi de ficat şi plaman de sobolan, iar Jajte şi colab. [151] au găsit, ca peroxidarea lipidică este indusă în omogenate şi membrane lisosomale din plaman de şobolan după o singură doză intratraheală de suspensie de 20 mg crocidolit. Goodglick şi colab. [149] au raportat că inducerea peroxidarii lipidice precum şi intensificarea acesteia este dependentă de timp şi doză.

O serie de cercetări au studiat posibilitatea modificării activităţii catalitice a suprafeţei pulberilor de azbest prin pretratament mecanic, termic sau chimic, ca posibilitate de modificare a potenţialului biologic, dar şi în scopul cunoaşterii agresivităţii biologice a pulberilor care, în procesele industriale, sunt supuse acţiunilor mecanice, temperaturilor ridicate sau agenţilor chimici. Astfel, tratamentul mecanic (macinare manuală în mojar de agat timp de 15 min.) a

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

două probe de crizotil având aceiasi origine mineralogică a aratat în spectrul IR o prejudiciere slabă a structurii fine [118]. În scopul reducerii activităţii hemolitice şi citotoxice a fibrelor de azbest, s-a încercat blocarea centrilor activi printr-un pretratament chimic. În acest scop, o serie de studii au raportat fixarea de grupe fosfat pe suprafata fibrelor de crizotil prin tratarea acestora cu $POCl_3$ gaz, dată fiind interacţia puternică a acestui compuş cu grupele hidroxil ale azbestului [110, 117, 152]. Rezultatele acestor studii arată că fixarea grupelor fosfat nu asigură o "pasivare" substanţială a azbestului privind efectele biologice în vitro ale azbestului.

Studii in vitro au aratat că pretratamentul termic al crizotilului la 400^0 C, timp de 24 ore a intensificat capacitatea de interacţie a acestuia cu macromolecula ADN, stabilindu-se legături chimice de tipul Si-O-O-PO_3, dar nu a influenţat capacitatea de interacţie a azbestului cu alţi compuşi biologici studiaţi. În schimb, pretratamentul termic la 600^0 C, timp de 24 ore al pulberilor de azbest a diminuat capacitatea de interacţie a grupelor Si-O ale crizotilului şi crocidolitului cu hemoglobin, a grupelor Si-O ale crocidolitului cu ADN, a octaedrilor de Mg ai crizotilului cu creatinina şi γ-globulina. Aceste rezultate arată pe de o parte, natura centrilor activi ai azbestului care sunt constituiţi în principal din grupe Si-O, iar pe de altă parte, posibilitatea modificării activităţii de suprafată şi implicit a potenţialului biologic prin pretratament termic [86, 87, 88, 89, 122].

3.2.3. Fibre minerale artificiale

Denumirea de fibre minerale artificiale (FMA) este utilizată pentru a desemna fibre amorfe, vitroase, fabricate din zgură, rocă materiale ceramice sau sticlă topită cu dimensiuni micronice şi a caror compoziţie chimică include oxizi de siliciu, aluminiu, bor, modificatori de reţea şi alte elemente [153, 154, 155].

In prezent se cunosc urmatoarele tipuri de FMA: *lana de rocă* şi *lana de zgură* (fibre obţinute prin topirea diferitelor tipuri de roci magmatice sau a zgurii rezultate în metalurgia fierului, oţelului sau a cuprului), *fibrele refractare sau fibrele ceramice* (obţinute din argile, diversi oxizi metalici, azoturi de siliciu şi bor) şi *fibrele de sticlă* [156, 157].

Fibrele de sticlă pot fi subîmpărţite în 3 tipuri în funcţie de marimea diametrului: *fibre de sticlă cu filament continuu* (diametru 6-15 μm), *lana de sticlă* (diametru 2-9 μm) şi *microfibre de sticlă* (diametru 0,1-3 μm) destinate unor scopuri speciale [158, 159, 160, 161, 162, 163, 164].

Dintre proprietăţile fizico-chimice responsabile de activitatea biologică a acestui tip de fibre au fost implicate dimensiunile, compoziţia chimică, solubilitatea şi durabilitatea în lichidele biologice şi activitatea de suprafaţă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2.3.1. Dimensiunile fibrelor

Dimensiunile şi geometria FMA au fost studiate în corelaţie cu procesele de patrundere şi reţinere a acestora în plămân. Depozitarea FMA în aparatul respirator se bazează pe cele 5 principii fizice amintite în cazul pulberilor silicogene (v. cap. 3.2.1.1) [165].

Studii în vitro au demonstrat că citotoxicitatea şi genotoxicitatea indusă de FMA se corelează puternic cu dimensiunile acestora şi anume citotoxicitatea se corelează puternic cu lungimea fibrelor [160, 161, 162, 166, 167]. S-a aratat că fibrele de sticlă lungi şi cu diametrul mic posedă activitate citotoxică marcată [161, 167].

Hart şi colab. [168] au observat o corelaţie directă între lungime şi efectul toxic al fibrelor refractare în experimente pe culturi celulare ovariene de hamsteri.

Rolul diametrului este mai puţin clar decât al lungimii. Hesterberg şi colab. [169] au raportat că fibrele cu diametrul mediu de 0,13 μm sunt mult mai puţin periculoase pentru sănătate decât fibrele cu diametrul de 0,8 μm atunci când concentraţia fibrelor a fost evaluată în unităţi de masă. Când concentraţia fibrelor a fost evaluată în numar de fibre, mai periculoase au aparut a fi fibrele mai groase.

Privind efectele cancerigene, o serie de cercetari [170, 171, 172, 173] au aratat existenţa unei corelaţii semnificative, pozitive între probabilitatea de apariţie a tumorilor şi logaritmul numarului de fibre dintr-un μg de probă care au *lungime peste 8 μm* şi *diametrul mai mic sau egal cu 0,25μm* ; acest numar a fost numit *numar indice*. Bazandu-se pe aceste cercetări a fost emisă *ipoteza Stanton* [170]. Conform acestei ipoteze, carcinogenitatea FMA depinde de numarul indice şi durabilitatea fibrelor în mediul biologic şi mai puţin de alte proprietăţi fizico-chimice. Unele cercetari [174] au aratat că alte proprietăţi decât dimensiunile FMA sunt raspunzatoare de efectele biologice. Inconsecvenţele teoriei Stanton se referă la apariţia tumorilor în expunerea la unele materiale nefibroase şi la existenţa unei relaţii, insuficient definite, doza-răspuns între numărul de fibre lungi şi subţiri existente în 1 μg de probă minerală şi carcinogenitate. S-a postulat că discrepanţele existente în această teorie ar putea fi atribuite unei caracterizări incomplete sau neadecvate a probelor prin tehnicile microscopice folosite. Cu toate neajunsurile acestei teorii, cele mai multe studii utilizează pentru aprecierea riscului profesional în expunerea la FMA numerele indici. Aceste numere arată probabilitatea de apariţie a tumorilor în expunerea la FMA. Numarul indice are valori cuprinse între 2,5 şi 6, iar probabilitatea de apariţie a tumorilor este proporţională cu valoarea numărului indice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2.3.2. Solubilitatea şi durabilitatea

Solubilitatea FMA se referă la procesul de dizolvare în lichidele biologice iar durabilitatea la procesul de fragmentare mecanică în aceste medii.

Ordinea solubilităţii fibrelor în vivo s-a demonstrat a fi urmatoarea: fibre de sticlă > lana de zgură > lana de rocă > fibre ceramice > crizotil > crocidolit, iar potenţialul toxic creşte în aceeaşi ordine [102, 153, 175]. Solubilitatea fibrelor depinde de pH-ul mediului: fluidul extracelular are o valoare a pH-ului de 7,4 în timp ce fluidul intracelular are un pH de aproximativ 5.

Durabilitatea FMA este raportată la clearance-ul pulmonar: când fibrele sunt scindate în fragmente mai mici, ele sunt reţinute într-o masură mai mică fiind date afară din organism prin fenomenul de clearance.

Durabilitatea FMA în plămân variază în ordinea: fibre de sticlă < lana de zgură sau de rocă < crizotil < amfiboli [165].

3.2.3.3. Activitatea de suprafaţă

Unele studii consideră că la baza efectelor biologice induse de FMA se află procesul de cataliză pe care acestea îl exercită asupra membranelor celulare cu producerea de radicali liberi [144, 176]. Astfel, Gulumian şi colab. [144] notează ca fibrele de sticlă generează radicali de tip hidroxil, în ciuda unui conţinut scazut în fier, în comparaţie cu azbestul. Autorii explică acest fapt prin starea de coordinare a fierului din fibrele de sticlă (si din alte FMA) care ii conferă starea de a fi "înalt catalitic".

3.2.4. Pulberi metalice

Pentru compuşii metalici, *valenta* imprimă un grad diferit de agresivitate. Astfel, fosforul trivalent este toxic, fosforul pentavalent este netoxic; cromul bivalent şi trivalent este mai puţin toxic decât cromul hexavalent. Arsenul trivalent este toxic, arsenul pentavalent are toxicitate mai mică [177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184]. Explicaţia acestui fapt rezidă în mecanismul intim de acţiune. De ex. în cazul cromului, compuşii de crom hexavalent au activitate cancerigenă mult mai pronunţată decât compuşii de crom trivalent deoarece, intracelular are loc o reducere a Cr^{6+} la specii penta- şi tetravalente, cu viată scurtă dar deosebit de reactive. În cazul compuşilor de crom trivalent această reducere nu are loc, toxicitatea şi carcinogenitatea acestei forme fiind mai redusă [185].

Sarcina electrică are importanţă pentru toxicitatea pulberilor metalice şi a compuşilor acestora. Astfel, Pb^{2+} este toxic, în timp ce Pb metalic este mai puţin toxic. O explicaţie care s-a dat acestui fapt a fost ca fagocitoza depinde de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

încărcarea de suprafată a particulei [186]. De asemeni, ionii metalici interacţionează cu usurintă cu diferite grupări din macromoleculele organice, de ex. ionii de As, Pb, Sn, Hg, Cd, Zn, Au, Ag, Cu au o afinitate mărită pentru grupele SH cu care reacţionează după schema: R-SII + $M^+ \rightarrow$ R-S-M + H^+ [187].

Marimea particulelor prezintă importantă pentru fagocitoză. Particulele cu marimea de 2-4 μm sunt fagocitate de 5-6 ori mai mult decât particulele cu marimea de 5-6 μm.

Structura cristalină a compuşilor anorganici influenţează potenţialul lor toxic deoarece influenţează fagocitoza şi capacitatea de transformare intramoleculară. Astfel, formele cristaline de Ni_3S_2, NiS sau Ni_3Se_2 au fost fagocitate mai activ în experimente pe animale şi au avut o toxicitate mai mare comparativ cu particulele amorfe de NiS, Ni metalic, Ni_3O_3 sau NiO [188].

Solubilitatea în mediile biologice influenţează atât absorbţia în organism cât şi citotoxicitatea compuşilor anorganici. Astfel, compuşii de crom solubili sunt mai uşor absorbiţi decât cei insolubili.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4. PROPRIETĂŢI FIZICO-CHIMICE UTILIZATE ÎN STUDIUL RISCULUI POTENŢIAL DE POLUARE A MEDIULUI PRIN NOI SUBSTANTE CHIMICE SINTETIZATE LA SCARĂ INDUSTRIALĂ

Efectul poluanţilor industriali asupra sănătăţii persoanelor expuse şi asupra mediului depinde de mai mulţi factori, dintre care o importantă deosebită o prezintă concentraţia de poluanţi existentă în atmosfera industrială. Concentraţia poluantului în atmosfera zonei de muncă este determinată la randul ei de o serie de factori dintre care trebuie menţionaţi rata de emisie în mediu, mobilitatea substanţei în mediu, capacitatea de degradare a acesteia în mediu, potenţialul de acumulare în mediu sau organism. Alţi factori luaţi în considerare sunt condiţiile climatice / meteorologice / geografice precum şi densitatea populaţiei expuse.

Estimarea *ratei de emisie* a poluanţilor industriali se face din date privind cantităţile utilizate. Cunoaşterea însă şi a altor proprietăţi fizico-chimice ale poluanţilor ca de ex. starea fizică, presiunea de vapori, solubilitatea în apă densitatea, marimea particulelor poate da indicaţii atât asupra ratei de emisie cât şi asupra părţii de ecosistem ce poate fi afectat şi asupra modului în care substanta poate afecta ecosistemul respectiv.

Mobilitatea substanţei în mediu, definită ca fiind usurinta acesteia de a se deplasa în mediu, este determinată de capacitatea de distribuţie a substanţei poluante între diferite medii (aer, apă, sol) şi de capacitatea (posibilitatea) de transport în fiecare mediu. Cunoaşterea unor parametri fizico-chimici, ca de ex. curba presiunii de vapori, solubilitatea în apă volatilitatea soluţiilor apoase, usurinta formarii de complecsi, densitatea, distribuţia marimii particulelor, vâscozitatea, tensiunea de suprafată a soluţiilor apoase permite estimarea distribuţiei substanţei în aer, apă şi sol.

In scopul prevederii capacităţii de *acumulare* în mediu sau organismele vii a unei substanţe poluante s-a utilizat coeficientul de repartiţie n-octanol / apă. În schimb, capacitatea de hidroliză este un indiciu important al posibilităţii de *degradare* a substanţei în contact cu apa [189].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

In cele ce urmează vor fi prezentate principalele proprietăţi fizico-chimice utilizate în testarea riscului potenţial pe care il reprezintă pentru poluarea mediului şi pentru sănătate noile substanţe apărute în industrie [189].

4.1. SPECTRELE DE ABSORBŢIE UV-VIS

Scopul principal al determinării spectrului de absorbţie ultraviolet-vizibil al unui compus chimic este de a avea unele indicaţii privind lungimea de undă la care compusul respectiv poate fi susceptibil de degradare fotochimică. Deoarece degradarea fotochimică este posibil a se produce atât în atmosferă cât şi în mediu apos, spectrele specifice acestor medii vor aduce informaţii pentru testarea *persistenţei.*

Degradarea depinde de energia totală absorbită în regiunile de lungimi de undă specifice. Energia absorbită este caracterizată atât de coeficientul molar de absorbţie cât şi de largimea de bandă. Totuşi, absenţa absorbţiei măsurabile nu exclude posibilitatea fotodegradarii.

4.2. PUNCTUL DE TOPIRE / INTERVALUL DE TOPIRE

Deoarece punctul de topire denumeşte temperatura la care o substanţă îşi modifică starea fizică, cunoaşterea acestuia dă indicaţii privind *distribuţia* substanţei în şi între mediile : apă, sol şi aer. De asemeni, punctul de topire, ca masură a purităţii unei substanţe, poate da indicaţii asupra *prezenţei impurităţilor*, care trebuie luate în considerare în evaluarea riscului de poluare prin compusul respectiv. În sfârşit, punctul de topire prezintă importantă pentru scopuri de identificare [190].

4.3. PUNCTUL DE FIERBERE / INTERVALUL DE FIERBERE

Punctul de fierbere dă indicaţii privind starea fizică în care o substantă va exista în mediu. Totodată este utilizat pentru scopuri de identificare.

4.4. CURBA PRESIUNII DE VAPORI

Această caracteristică dă indicaţii asupra probabilităţii *tranziţiilor de fază* lichid / gaz şi solid /gaz, iar impreună cu solubilitatea în apă se utilizează pentru calculul volatilităţii substanţelor din soluţie apoasă. Datele privind presiunea de vapori sunt folosite de asemeni în prevederea concentraţiilor atmosferice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.5. SOLUBILITATEA ÎN APĂ

Solubilitatea în apă a poluanţilor reprezintă un factor semnificativ în testarea riscului, deoarece miscarea spaţială şi temporară a unei substanţe este puternic influenţată de solubilitatea acesteia în apă. De asemeni, substanţele solubile în apă patrund şi sunt reţinute relativ usor de organismul uman.

Cunoaşterea solubilităţii în apă este o condiţie prealabilă pentru testarea degradării biologice şi a bioacumulării în apă.

4.6. PROCESELE DE ADSORBŢIE / DESORBŢIE

Datele de adsorbţie / desorbţie sunt necesare pentru evaluarea tendinţei de migrare a compuşilor chimici în aer, apă, sol. Aceste date sunt necesare de asemeni pentru a estima volatilitatea din apă şi sol precum şi fotodegradarea substanţelor adsorbite pe suprafaţa aerosolilor. Procesele de adsorbţie / desorbţie, dand informaţii asupra proceselor de transport ale substanţelor chimice, aduc informaţii şi asupra biotransformarii acestora.

Procesele de adsorbţie / desorbţie în şi din diverse medii depind de caracteristicile fizico-chimice ale toxicului, de proprietăţile adsorbantului şi de parametrii mediului.

4.7. COEFICIENTUL DE REPARTIŢIE (N-OCTANOL / APĂ)

Coeficientul de repartiţie (notat CP sau P) reprezintă raportul între concentraţia substanţei într-un solvent organic (C_1) şi concentraţia în apă (C_2) care se stabileşte după dizolvarea substanţei în sistemul celor doi solvenţi nemiscibili :

$$P = \frac{C_1}{C_2} \qquad (4.1)$$

Dintre multiplele sisteme biologice cercetate (peste 100), sistemul n-octanol / apă s-a dovedit a modela cel mai adecvat pătrunderea, dizolvarea şi transportul substanţelor chimice în mediile biologice [191].

Substanţa se consideră hidrofobă dacă $P \geq 1$; când $P < 1$ substanţa este hidrofilă.

Coeficientul de repartiţie n-octanol / apă este utilizat pentru a descrie transferul unei substanţe din mediul apos în organism şi potenţialul de bioacumulare al substanţei. Cercetarile arată o relaţie înalt semnificativă între coeficientul de repartiţie al diferitelor substanţe şi bioacumularea acestora în organism [192].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.8. ACTIVITATEA TERMODINAMICĂ

O serie de autori [15, 193] consideră că toxicitatea poate fi exprimată în termeni de activitate termodinamică pe care au definit-o ca fiind raportul între presiunea de vapori a unei substanţe la o concentraţie dată (concentraţia efectivă) şi presiunea vaporilor sai saturaţi, la aceeasi temperatură. Activitatea termodinamică a diversilor neelectroliţi este frecvent exprimată prin cifre de ordinul 0,1-0,9. O activitate termodinamică mult scazută denotă prezentă unui mecanism de acţiune mai puţin «fizic», dar mai ales «chimic».

In cadrul unei serii omologe, în general, activitatea termodinamică creşte cu numarul atomilor de carbon. Activitatea termodinamică a unui neelectrolit variază considerabil în funcţie de mecanismul sau de acţiune. De aceea, studiul acestei proprietăţi va aduce informaţii privind mecanismul de acţiune al poluanţilor.

4.9. ALŢI PARAMETRI

Densitatea gazelor, lichidelor insolubile în apă şi solidelor este utilizată pentru studiul persistenţei substanţelor în atmosfera zonelor de lucru.

Cunoaşterea *distribuţiei marimii particulelor* aduce informaţii privind sedimentarea şi / sau transportul acestora în aerul zonelor de muncă.

Hidroliza în funcţie de pH este relevantă pentru persistenţa poluantului în mediu.

Constantele de disociere în apă prezintă importantă în studiul impactului unei substanţe poluante asupra mediului privind transportul şi adsorbţia acesteia în celulele organismului.

Stabilitatea termică şi stabilitatea în aer dă informaţii privind reacţiile de descompunere cu eliminarea de produsi volatili.

Tensiunea superficială a soluţiilor apoase. Substanţele tensioactive străbat mai uşor membrana celulară; de aceea, o creştere a tensiunii superficiale poate conduce la o creştere a toxicităţii.

Prezenţa proprietăţilor tensioactive, prin modificarea proprietăţilor interfaciale, poate duce la creşterea fotodegradării sau fotoconversiei.

Solubilitatea în grăsimi reprezintă una din datele utilizate pentru evaluarea depozitării toxicelor în ţesuturile biologice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5. RELAŢII CANTITATIVE STRUCTURĂ CHIMICĂ – ACTIVITATE BIOLOGICĂ

Aspectele cantitative ale problemei structură chimică – activitate biologică au fost iniţiate de Meyer şi Overton la începutul acestui secol [21]. In concordanţă cu aceşti autori, activitatea biologică a substanţelor chimice cu structura înrudită este în relaţie liniară cu proprietăţile lor lipofilice. In lucrările acestor autori s-a propus utilizarea coeficientului de repartiţie grăsime/apă pentru a descrie efectul narcotic al moleculelor organice de neelectroliţi.

Ipoteza existenţei unor relaţii între structura chimică şi activitatea biologică a fost mai târziu dezvoltată de noi studii cantitative privind influenţa structurii substanţelor asupra vitezei şi echilibrului reacţiilor chimice.

Tehnicile QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationships) folosite pentru studiul acestor relaţii cantitative se pot clasifica în două categorii: a) tehnici care aplică metodele statistice pentru corelarea datelor biologice cu un parametru arbitrar al unui anumit model şi b) tehnici care determina indicii electronici de reactivitate.

Din primul grup de tehnici fac parte trei metode şi anume *analiza Hansch, metoda Free – Wilson şi metoda de corelare structură – efect.*

Privind această ultima metoda, nu este întrutotul justificat încadrarea în termenul QSAR deoarece aceasta se utilizează pentru stabilirea relaţiilor în termeni de "tip de efect", adică pentru stabilirea relaţiilor între structura unei substanţe şi prezenţa sau absenţa unui anumit efect.

In al doilea grup de tehnici, pe baza teoriei orbitalilor moleculari se calculeaza *indicii electronici de reactivitate statici* (care se referă la starea fundamentală a moleculei) şi *dinamici* (care se referă la moleculele aflate în stare excitată).

5.1. ANALIZA HANSCH

Pornind de la ideea că acumularea unei substanţe la locul de acţiune este funcţie de coeficientul de repartiţie, iar reactivitatea moleculei toxicului devine semnificativă după ce se realizeaza o concentraţie "critică" la "situsul receptor", Hansch a urmarit corelaţia între activitatea biologică, coeficienţii de repartiţie şi constantele Hammett.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.1.1. Ecuaţia Hammett

Fie reacţia Y + R – X → Y – R + X, caracterizată de constanta de echilibru K. In termodinamică se arată că:

$$\ln K = -\frac{1}{RT}\Delta G^0 \qquad (5.1)$$

unde: T = temperatura absolută

ΔG^0 = variaţia entalpiei libere standard

R = constanta universală a gazelor

In cazul reacţiilor ireversibile, constanta de viteză, k, este funcţie de variaţia entalpiei libere de activare, $\Delta G^{\#}$, conform ecuaţiei:

$$k = \frac{K_B T}{h} e^{-\Delta G^{\#}/RT} \qquad (5.2)$$

unde: K_B = constanta Boltzmann

h = constanta Planck

Din relaţia (5.2) se observă că o reacţie va avea o viteză cu atât mai mare cu cât entalpia liberă de activare este mai mică.

Reacţia decurge printr-o stare de tranziţie numită "complex activat"(fig.5.1). Starea de tranziţie Y...R...X reprezintă un stadiu de energie maxima a moleculelor şi are o viată scurtă, disociindu-se spontan pentru a trece în produsii de reacţie.

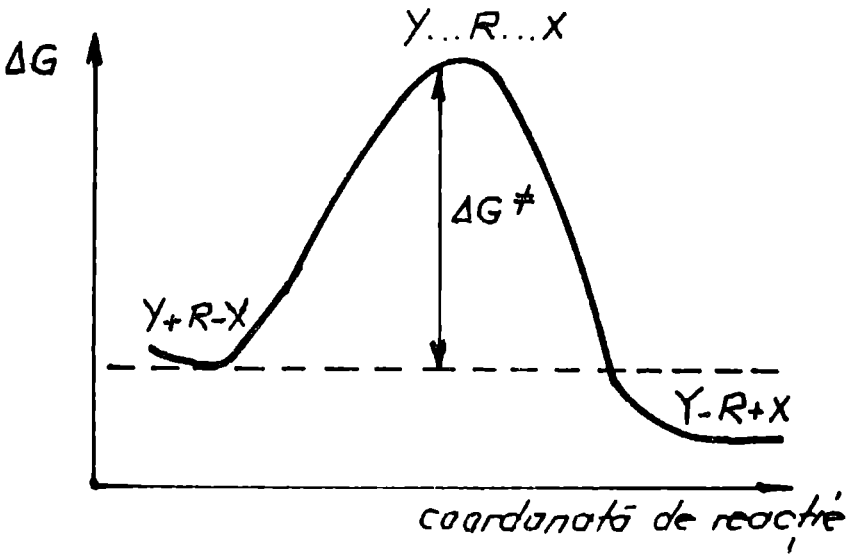


Fig. 5.1. Profilul energetic al reacţiei Y + R – X → Y – R + X.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Entalpiile libere standard şi de activare sunt dependente de entropiile standard, respectiv de activare conform relaţiilor:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (5.3)$$

$$\Delta G^{\#} = \Delta H^{\#} - T\Delta S^{\#} \quad (5.4)$$

unde: ΔH^0, $\Delta H^{\#}$ = entalpia standard, respectiv de activare

ΔS^0, $\Delta S^{\#}$ = entropia standard, respectiv de activare

Când în molecula unui compus se introduce un nou substituent este necesar să se cunoască cum va modifica acesta reactivitatea compusului. În acest caz, se poate determina cantitativ influenţa substitentului asupra entalpiei libere de activare (şi deci asupra constantei de viteză) dacă se poate parametriza o proprietate a substituentului. In acest sens, se consideră că pentru două sau mai multe reacţii, variaţiile entalpiei libere de activare ($\Delta G^{\#}$) sunt proporţionale cu aceeasi proprietate a substituentului.

Fie compusii $X_0 - M - Y$ şi $X - M - Y$ în care X_0 şi X sunt substituenţi, M este molecula suport, iar Y este centrul de reacţie; se consideră reacţiile acestor compusi cu moleculele B şi C:

$$X_0 - M - Y + B \xrightarrow{k_0} X_0 - M - Y' \quad (5.5)$$

$$X - M - Y + B \xrightarrow{k_X} X - M - Y'$$

şi

$$X_0 - M - Y + C \xrightarrow{k_0} X_0 - M - Y'' \quad (5.6)$$

$$X - M - Y + C \xrightarrow{k_X} X - M - Y''$$

caracterizate de constantele de viteză k_0 (respectiv k_0') pentru compusul nesubstituit şi k_x (respectiv k_x') pentru compusul substituit. Reacţia (5.5) ce conţine substituentul standard X_0 se consideră drept reacţie standard.

Fie χ acea proprietate a substituentului care este proporţională cu variaţia entalpiei libere de activare.

Când substituentul X_0 este înlocuit prin X se poate scrie:

$$\Delta G_X^{\#} - \Delta G_0^{\#} = C_1\chi \quad \text{(pentru reacţia 5.5)} \quad (5.7)$$

$$\left(\Delta G_X^{\#}\right)' - \left(\Delta G_0^{\#}\right)' = C_2\chi \quad \text{(pentru reacţia 5.6)}$$

Imparţind relaţiile (5.7) rezultă:

$$\left(\Delta G_X^{\#}\right)' - \left(\Delta G_0^{\#}\right)' = \frac{C_2}{C_1}\left(\Delta G_X^{\#} - \Delta G_0^{\#}\right) \quad (5.8)$$

Utilizând rel.(5.2) se obţine următoarea relaţie liniară de energie liberă:

$$\log\frac{k_X'}{k_0'} = \frac{C_2}{C_1}\log\frac{k_X}{k_0} \quad (5.9)$$

Relaţia (5.9) arată *efectul schimbarii substituentului asupra constantei de viteză*: factorul C_2/C_1 arată susceptibilitatea centrului de reacţie Y faţă de variaţia substituentului în comparaţie cu aceea din reacţia standard, iar $\log k_X/k_0$ indică efectul rezultat asupra reacţiei standard prin schimbarea substituentului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Raportul C_2/C_1 se notează cu ρ şi se numeşte *constanta de reacţie* deoarece este o mărime caracteristică a reacţiei compusului substituit în raport cu reacţia în care este implicat compusul nesubstituit (reacţia standard). Hammett a considerat drept reacţie standard ionizarea în apă a acizilor meta- şi para- substituiţi la 25°C, iar drept substituent standard a fost considerat hidrogenul.

Factorul $\log k_X/k_H$ a fost notat cu σ şi se numeşte *constanta de substituent.* Prin definiţie $\sigma_H = 0$. σ are valori negative pentru substituenţii donori de electroni şi valori pozitive pentru cei acceptori de electroni.

Cu aceste notaţii, rel.(5.9) devine:

$$\log \frac{k'_X}{k'_0} = \rho \cdot \sigma \qquad (5.10)$$

In rel. (5.10), care reprezintă *ecuaţia Hammett,* constanta de reacţie ρ exprima susceptibilitatea reacţiei studiate faţă de schimbarea substituentului, iar constanta de substituent, σ, arată influenţa substituenţilor asupra constantei de viteză a reacţiei în care participa compusul substituit faţă de constanta de viteză a reacţiei în care participa compusul nesubstituit [194,195].

Rel.(5.10) care se poate scrie sub forma:

$$\log k_X = \rho\sigma - \log k_0 \qquad (5.11)$$

reprezintă ecuaţia unei drepte în care ρ este coeficientul unghiular iar $\log k_0$ este interceptul la ordonată.

Ecuaţia Hammett, care reprezintă o relaţie liniară de energie liberă, se aplică când se respectă urmatoarele condiţii:

- mărimile care interacţionează trebuie să fie scalare pentru ca interacţia dintre substituentul X şi centrul de reacţie Y să se poată exprima sub forma unui produs de doi factori ρ şi σ;
- variaţiile structurale produse de schimbarea substituenţilor trebuie să fie mici;
- substituentul X din compusul X – M – Y trebuie să influenţeze centrul de reacţie Y printr-un singur efect, de ex. numai inductiv.

In cele ce urmează se vor face câteva consideraţii asupra celor două constante, ρ şi σ.

Constanta de reacţie "ρ"

Constanta de reacţie indică uşurinţa cu care se transmit efectele electronice ale substituenţilor X până la centrul de reacţie Y.

Hammett a dat următoarea relaţie pentru ρ [16]:

$$\rho = \frac{1}{RTd^2}\left(\frac{B_1}{D} + B_2\right) \qquad (5.12)$$

unde: R = constanta universală a gazelor
T = temperatura absolută la care are loc reacţia
d = distanta de la substituent la centrul de reacţie

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

D = constanta dielectrică a solventului

B_1 = constanta ce depinde de interacţia dintre reactant şi mediu

B_2 = constanta ce exprimă sensibilitatea reacţiei faţă de modificarea densităţilor electronice.

In cazul reacţiilor electrofile, ρ este negativ, iar în cele nucleofile ρ este pozitiv.

Constanta de substituent "σ"

Efectele electronice ale substituenţilor asupra centrului de reacţie se pot manifesta fie printr-o interacţie directă (numită "efect de câmp") fie printr-o interacţie transmisă prin sistemul de electroni π şi/sau σ. Această ultimă interacţie este dată de:

1. efectul inductiv (I):
   - prin polarizare (efect inductiv static, I_s)
   - prin polarizabilitate (efect inductiv dinamic, I_d – are loc numai în starea de tranziţie)
2. efectul de conjugare (E):
   - prin polarizare (efect mezomer, E_s)
   - prin polarizabilitate în stare dinamică (efect electromer, E_d).

Dacă M din molecula X – M – Y este un nucleu aromatic, atunci interacţia dintre substituentul X şi centrul de reacţie Y poate avea la bază atât un efect inductiv cât şi un efect de conjugare; în acest caz constanta σ exprimă ambele efecte.

Deoarece σ exprima doua tipuri de efecte electronice, ecuaţia Hammett a prezentat abateri de la liniaritate când X a avut efect – E (- NO_2, - COOH), iar Y a avut efect + E (- OH, - NH_2). (fig.5.2)

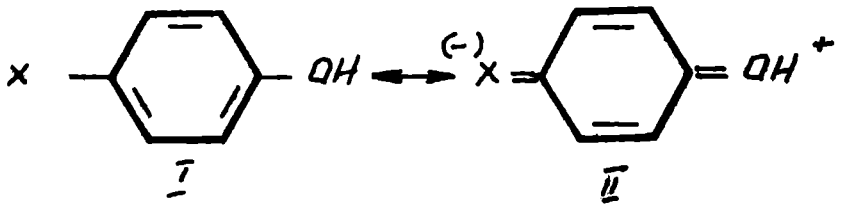


Fig. 5.2. Conjugarea electronică între substituentul de ordinul I (efect + E) şi cel de ordinul II (efect – E) grefaţi pe nucleul aromatic.

In acest caz se folosesc două valori pentru σ: σ^+ şi σ^- (constanta σ^- se utilizează când structura II câştigă în importanţă). Când substituentul X are efect + E iar centrul de reacţie are efect – E, pentru σ se folosesc valorile σ şi σ^+.

Intrucât în urma conjugării electronice între un substituent şi centrul de reacţie are loc o intensificare a polarizarii centrului de reacţie, se poate scrie $\sigma^- > \sigma$ şi $\sigma^+ < \sigma$.

Constantele σ sunt, în principiu aditive. Dacă un compus conţine doi sau mai mulţi substituenţi, constantele lor σ pot fi sumarizate.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Trebuie menţionat faptul că ecuaţia Hammett nu este adecvată determinării parametrilor de toxicitate şi de activitate biologică a compusilor aromatici polisubstituiţi.

5.1.2. Ecuaţia Taft

Ulterior Taft a efectuat studii asupra efectului *inductiv,* determinand σ pentru o serie de compuşi alifatici şi aromatici (derivaţi benzenici orto – substituiţi) şi de asemeni a definit constantele de substituent ale efectului *steric.*

5.1.2.1. Constantele de substituent inductive

Pentru studiul efectului electronic inductiv, Taft a considerat drept reacţie standard, hidroliza unor esteri în cataliză acidă şi bazică. In acest caz, ecuaţia Hammett se poate scrie:

$$\log (k/k_0)_B - \log (k/k_0)_A = \sigma^* (\rho_B - \rho_A) \qquad (5.13)$$

unde A şi B = indici ce semnifică hidroliza în cataliză acidă, respectiv bazică

σ^* = constanta de substituent ce indică numai efecte inductive

Taft a considerat drept substituent standard grupa metil; de aceea $\sigma^*_{CH_3} = 0$

In scopul studierii efectelor inductive la derivaţii aromatici, Taft a considerat drept reacţie standard hidroliza esterilor o – X – C_6H_4 – COOR (unde R = CH_3 sau C_2H_5).

Pe baza determinarilor experimentale s-a stabilit o relaţie între constantele de reacţie ρ ale seriei alifatice şi aromatice:

$$\rho_0 - X - C_6H_4 - Y / \rho_{alif} = 2{,}48 \qquad (5.14)$$

Trebuie precizat faptul că aceste constante de substituent inductive exprima cantitativ urmatorii parametrii electronici:

- polaritatea legăturilor din substituentul X
- electronegativitatea primului atom al substituentului X
- gradul de hibridizare al orbitalelor acestor atomi
- efectul dipolului.

Deoarece valorile lui σ^* pot fi folosite pentru corelarea unor date fizice ale substanţelor organice, σ^* a fost numită *constanta inductivă universală.*

5.1.2.2. Constantele de substituent care descriu efectul steric

Considerând drept reacţie standard hidroliza acidă a asterilor, Taft a definit *constanta sterică de substituent,* E_s prin relaţia:

$$E_s = \log (k / k_0)_A \qquad (5.15)$$

S-a constatat că efectele sterice nu sunt aditive, iar valorile E_s cresc cu creşterea razei van der Waals.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

In accepţiunea lui Taft, măsura sensibilităţii unei reacţii la modificările sterice ale substituenţilor este exprimată de constanta de reacţie δ, definită de relaţia:

$$\log k / k_0 = \delta E_s \qquad (5.16)$$

Ulterior, rel. (5.16) a fost înlocuită printr-o relaţie mai complexă, cu aplicabilitate mai largă, de tipul:

$$\log k / k_0 = \rho\sigma^* + \delta E_s \qquad (5.17)$$

5.1.2.3. Separarea efectelor inductive de cele de conjugare în compuşii meta- şi para- substituiţi

Taft a considerat pentru compuşii aromatici meta- şi para- substituiţi ca [195]:

$$\log k_{px} / k_0 = I + E \qquad (5.18)$$

şi deci:

$$\log k_{mx} / k_0 = I + E_m = I + \alpha E_p \qquad (5.19)$$

unde: m şi p = indici ce se referă la poziţiile meta, respectiv para

I = efect inductiv

E = efect electromer

$\alpha = \frac{1}{10} sau \frac{1}{3}$ după cum are loc sau nu conjugarea directă a lui X cu Y.

Efectul *inductiv* este descris prin ecuaţia:

$$I = \rho_I \sigma_I = \frac{1}{1-\alpha}(\log k_{mx} / k_0) - \log(k_{px} / k_0) \qquad (5.20)$$

Efectele de *conjugare* sunt reflectate de constanta $\bar{\sigma}_R$ care este dată de relaţia:

$$\bar{\sigma}_R = \frac{1}{\rho}\log k / k_0 - \sigma_I \qquad (5.21)$$

unde $\bar{\sigma}_R$ poate fi redat de doua constante, $\sigma_R^+ sau \sigma_R^-$ în funcţie de natura centrului de reacţie:

$$\sigma_R^+ = \sigma^+ - \sigma_I \text{ şi } \sigma_R^- = \sigma^- - \sigma_I \qquad (5.22)$$

5.1.2.4. Constante de substituent care descriu radicalii liberi

S-a încercat stabilirea de ecuaţii tip Hammett în cazul reacţiilor în care apar radicali liberi.

Drept reacţie standard s-a considerat extragerea unui atom de H din derivaţii de cumen substituiţi la nucleu. Ecuaţia care s-a dovedit a exprima cel mai adecvat contribuţia substituenţilor la stabilizarea radicalilor liberi este următoarea [195]:

$$\log k / k_0 = \rho\sigma + \gamma E_R \qquad (5.23)$$

unde: E_R = constanta de substituent radicalic

Drept substituent standard s-a ales hidrogenul.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.1.3. Ecuaţia Zahradnik

Ecuaţia lui Hammett a fost ameliorată de Zahradnik care a propus ecuaţii mono- şi bicomponente pentru determinarea gradului de toxicitate al substanţelor şi a insistat asupra relaţiei cu substanţa vehicul care transportă substanţele la locul de acţiune şi asupra interacţiei chimice cu receptorul.

Zahradnik a propus o ecuaţie similară celor lui Hammett şi Taft [196, 197]:

$$\log\frac{\tau_i}{\tau_{et}} = \alpha\beta \qquad (5.24)$$

unde: τ_i = activitatea biologică a compusului i

τ_{et} = activitatea biologică a derivatului etilic

β = constanta ce depinde de activitatea biologică a substituentului (pentru derivatul etilic $\beta = 0$)

α = constanta ce depinde de parametrii sistemului (obiectul test biologic şi derivatul etilic)

Discrepanţele obţinute între rezultatele calculate utilizând rel. (5.24) şi valorile reale au fost raportate la modificările mecanismului de acţiune al membrului seriei omologe a cărui toxicitate se studiază. In cazul unor serii omologe, rel. (5.24) nu s-a putut aplica, probabil datorită faptului că efectul nu este raportat la o singură reacţie.

Conform teoriei lui Zahradnic, efectul biologic trebuie raportat de asemeni şi la substanţa *vehicul* care transportă substanţa la locul de acţiune, precum şi la *interacţia chimică* cu receptorul. Luand în consideraţie aceste două aspecte, Zahradnik a propus o ecuaţie mai complexa, de tipul:

$$\log\frac{\tau_i}{\tau_{et}} = \sum_i X_i + y\delta_i \qquad (5.25)$$

unde: δ_i = constanta analogă constantei σ din ecuaţia Hammett

X_i = constanta raportată la efectele substituentului i din punct de vedere al impactului acestuia asupra proprietăţilor fizice ale compusului studiat; X_i poate fi înlocuit prin coeficientul de repartiţie ulei / apă.

Zahradnik şi colab. [198] într-un studiu efectuat asupra a 45 compuşi, au stabilit o corelaţie între structura şi toxicitatea derivaţilor disubstituiţi ai benzenului. Autorii au determinat valorile DL_{50} dupa administrare intravenoasă la soareci albi a celor 45 compuşi utilizând drept substituenţi X şi Y grupe NO_2, Cl, CH_3 şi NH_2 în poziţiile meta şi para şi au stabilit următoarea relaţie:

$$\log\frac{(DL_{50})_{HH}}{(DL_{50})_{XY}} = B_X + B_Y + l_X \cdot l_Y \qquad (5.26)$$

unde: $(DL_{50})_{HH}$ şi $(DL_{50})_{XY}$ = valorile DL_{50} pentru derivatul nesubstituit, respectiv derivatul disubstituit

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

B_X şi B_Y = constante care ţin seama de efectul substituenţilor asupra toxicităţii

l_X . l_Y = factor raportat la interacţia substituenţilor.

Ljublina [15] încercând să aplice rel. (5.26) pentru calculul CL_{50} şi a limitelor maxime admise pentru derivaţii mono- şi disubstituiţi ai benzenului, nu a obţinut în toate cazurile valori concordante cu cele reale.

5.1.4. Ecuaţia Hansch

Ideea de bază a modelului Hansch este că o anumită activitate biologică într-o serie de compusi înrudiţi structural este determinată de suma proprietăţilor hidrofobe, electronice şi sterice ale moleculelor [7, 199, 200].

Hansch consideră că modelarea acţiunii biologice a unei substanţe (substrat) poate fi redată printr-o succesiune de etape:

$$S \xrightarrow[I]{} S + R \xrightarrow[II]{k_x} \ldots \longrightarrow RB$$

(în faza extracelulară) (în faza celulară)

unde: S = substrat (substanţa poluantă)

R = receptor

RB = răspuns biologic

k_x = constanta de viteză a reacţiei determinante de viteză

Aceste etape sunt îndepărtate în timp şi spaţiu de răspunsul biologic, RB (de ex.DL_{50}).

Fie C concentraţia molară a substanţei poluante la locul patrunderii; în intervalul de timp Δ t, concentraţia la partea activă a receptorului va fi A.C (unde A = probabilitatea că poluantul să ajungă la partea activă a receptorului şi să producă răspunsul biologic în intervalul de timp Δ t).

Viteza de reacţie a producerii RB este dată de relaţia:

$$\frac{dRB}{dt} = A \cdot k_x \cdot C \qquad (5.27)$$

Pentru a descrie modul cum substanţa poluantă interacţionează cu biofaza, Hansch a indicat utilizarea coeficienţilor de repartiţie lipide / apă [199].

Pentru a exprima mişcarea unei substanţe prin ţesuturi s-a utilizat urmatoarea relaţie liniară de energie liberă [195]:

$$\log P_{bio} = a \log P_{sol} + b \qquad (5.28)$$

unde: P_{bio} = coeficientul de repartiţie al poluantului între faza apoasă şi biofaza în care se produce răspunsul biologic standard observat

P_{sol} = coeficientul de repartiţie determinat experimental într-un solvent de referinţă

a, b = constante

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Intr-o serie de cazuri, dupa creşterea activităţii biologice paralel cu coeficientul de repartiţie, activitatea scade odată cu creşterea caracterului lipofil. Explicaţia rezida în faptul ca un membru al unei serii omologe care are coeficientul de repartiţie ulei / apă aproape zero, este solubil în apă, dar nu poate traversa o membrană lipoidică.

Dimpotrivă, o substanta al cărei coeficient de repartiţie tinde spre ∞ nu poate traversa o membrana hidrofilă. De aceea, numai substanţele care au un coeficient de repartiţie ideal (notat P_0) cuprins între 0 şi ∞, vor putea traversa atât membranele hidrofobe cât şi cele hidrofile.

Considerând un coeficient de repartiţie ulei/apă ideal, s-a admis că răspunsul biologic RB are o distribuţie gaussiana faţă de coeficientul de repartiţie. In acest caz, factorul A de probabilitate se defineşte termodinamic prin relaţia:

$$A = a\, e^{-\frac{(\log P - \log P_0)^2}{b}} \qquad (5.29)$$

unde: $\log P_0$ = valoarea pentru care variaţia energiei libere este minima când substanţa trece din apă în lipide într-o situaţie de neechilibru.

Introducând rel. (5.29) în rel. (5.27) se obţine:

$$\frac{dRB}{dt} = a \cdot e^{-\frac{(\log P - \log P_0)^2}{b}} \cdot k_X \cdot C \qquad (5.30)$$

Considerând că în cazul existenţei unui răspuns biologic standard (R.S.), concentraţia substanţei în biofază, C_{bio}, este constantă, coeficientul de repartiţie într-un sistem biologic, P_{bio}, se poate scrie:

$$(P_{bio})_{R.S.} = \frac{C_{bio}}{C_{H_2O}} = \frac{const}{C_{H_2O}} \qquad (5.31)$$

$$\text{sau } \log\frac{1}{C_{H_2O}} = \log(P_{bio})_{R.S.} - \log const. \qquad (5.32)$$

Inlocuind rel. (5.28) în rel. (5.32) se obţine:

$$\log\frac{1}{C_{H_2O}} = a \log P_{sol} + const. \qquad (5.33)$$

Logaritmul inversului concentraţiei molare a substratului (substanţei poluante) ($\log\frac{1}{C}$) exprima răspunsul biologic (de ex.DL_{50}); de aceea, $\frac{dRB}{dt}$ din rel. (5.30) se va înlocui prin $\log\frac{1}{C}$. Logaritmand ec. (5.30) şi ţinând cont că $\log P_0$ = const., rezultă:

$$\log\frac{1}{C} = -k_1(\log P)^2 + k_2 \log P + \log k_X + k_3 \qquad (5.34)$$

unde: $k_1 \log (P)^2$ şi $k_2 \log P$ = probabilitatea că o substanţa să ajungă la receptor în intervalul de timp Δ t.

$\log k_X$ = logaritmul constantei de viteză a reacţiei determinante de viteză (concepută ca o reacţie de ordinul I) şi care se poate exprima printr-o relaţie liniară de tip Hammett

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Hansch a propus urmatoarea schema pentru interacţiunea propriu-zisă a unei substanţe cu receptorul:

$$S + R \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} SR \underset{k_4}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} P_r.R \underset{k_6}{\overset{k_5}{\rightleftharpoons}} P_r + R \qquad (5.35)$$

unde: SR = substrat (poluant) adsorbit pe receptor

$P_r.R$ = substrat modificat

P_r = produşi de reacţie

Considerând constanta de viteză k_3 determinantă de viteză pentru reacţia de transformare a poluantului în substrat modificat, se poate scrie că viteza de producere a substratului modificat, v, este dată de relaţia:

$$v = k_3 [SR] \qquad (5.36)$$

Inlocuind [SR] dat de relaţia [conform reacţiei de echilibru redată de rel. (5.35)]:

$$[SR] = \frac{[S] \cdot [R] \cdot k_1}{k_2} \qquad (5.37)$$

în ecuaţia (5.36) se obţine, prin logaritmare:

$$\log v = \log k_3 + \frac{\log k_1}{\log k_2} + \log[S] + \log[R] \qquad (5.38)$$

Deoarece reacţia determinantă de viteză s-a considerat ca fiind o reacţie de ordinul I, [S] şi [R] în rel. (5.38) sunt constante.

Producerea reacţiei determinante de viteză depinde de energia liberă molară de formare a substratului modificat ($P_r.R$). Hansch a presupus că această energie liberă molară de formare, $\Delta G_{P_r \cdot R}$, este constituită din suma contribuţiilor de interacţie electronice, de desolvatare a complexului $P_r.R$, sterice şi conformaţionale între substrat şi receptor:

$$\Delta G_{P_r \cdot R} = \Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^s + \Delta G^p + \Delta G^e (\Delta G^d + \Delta G^s + \Delta G^p) + \Delta G^d (\Delta G^e + \Delta G^s + \Delta G^p) + \Delta G^s (\Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^p) + \Delta G^p (\Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^s) \qquad (5.39)$$

Neglijand termenii care exprimă interferenţa între componentele menţionate, se obţine:

$$\Delta G_{P_r \cdot R} = \Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^s + \Delta G^p + \text{const.} \qquad (5.40)$$

unde: ΔG^e, ΔG^d, ΔG^s, ΔG^p = contribuţiile independente ale interacţiilor electronice, de desolvatare, sterice şi conformaţionale dintre poluant şi receptor

Când într-o serie omologă, substanţele se deosebesc printr-un singur substituent, rel. (5.40) devine:

$$\delta(\Delta G_{P_r \cdot R}) = \delta(\Delta G_n^e) + \delta(\Delta G_n^d) + \delta(\Delta G_n^s) + \delta(\Delta G_n^p) \qquad (5.41)$$

unde: n = indice care arată numărul termenilor din seria de compuşi luată în studiu

Relaţia (5.41) exprimă variaţia în producerea reacţiei determinante de viteză şi implicit în apariţia răspunsului biologic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Considerând contribuţia modificărilor conformaţionale, $\delta(\Delta G_n^r)$ constantă într-o serie studiată, rel. (5.38) se poate scrie sub forma unei relaţii liniare de energie liberă în care efectele electronice ale substituenţilor asupra constanţei de viteză k_x să fie reflectate de constanta Hammett, iar variaţia energiei libere de desolvatare să fie redată de constanta de substituent de hidrofobicitate (π) [199]:

$$\log k_x = a\sigma + b\pi + cE_s + k \qquad (5.42)$$

unde: σ = constanta de substiuent Hammett (care exprima efectele electronice inductive şi de conjugare asupra constantei de viteză k_x)

π = constanta de substituent de hidrofobicitate, definită de Hansch şi Fujita [7, 199] prin relaţia: $\pi = \log P_x - \log P$ (unde P_x = coeficientul de repartiţie al unui compus substituit iar P = coeficientul de repartiţie pentru compusul nesubstituit)

E_s = constanta sterică de substituent (arată variaţia efectelor sterice produse de substituent)

Constanta de substituent de hidrofobicitate, π, arată contribuţia substituentului la formarea legăturii hidrofobe $P_r - R$.

Inlocuind $\log k_x$ din rel. (5.42) în rel. (5.34) şi utilizând în loc de log P pe π, rezultă:

$$\log\frac{1}{C} = -k_1\pi^2 + k_2\pi + k_3\sigma + k_4E_s + k_5 \qquad (5.43)$$

Rel. (5.43) reprezintă *ecuaţia Hansch de energie libera pentru calculul activităţii biologice din date de structura chimică.* Deoarece în această ecuaţie coeficientul k_2 include atât coeficientul k_2 din rel. (5.34) cât şi coeficientul b din rel. (5.42) rezultă că nu poate fi separat aportul factorului log P în transportul substanţei poluante de rolul acestuia în etapa determinantă de viteză.

Consideraţii privind definirea coeficientului de repartiţie.

Aşa cum s-a amintit în cap. 5.1.4.,Hansch a indicat utilizarea *coeficientului de repartiţie*, P, lipide / apă pentru a descrie transportul unei substanţe în biofază.

Termenul de *legătură hidrofobă* este de asemeni utilizat pentru a descrie schimbarile de energie liberă care au loc la trecerea substanţei din faza apoasă în biofază. Există dificultăţi în definirea termenului de "legatură hidrofobă". De ex., repartiţia unei molecule polare între heptan şi apă diferă de repartiţia aceleiasi molecule între octanol şi apă. Indepărtarea învelişului de molecule de apă de solvatare din jurul substanţei organice la trecerea acesteia în faza lipidică are rol important în repartiţie. Această desolvatare nu este identică pentru cele doua tipuri de repartiţii (apă / heptan şi apă / octanol).

Când se alege un solvent de referinţă în scopul modelării efectelor hidrofobe în organism se pot considera două cazuri. Un prim caz constă în selectarea unei hidrocarburi (de ex. heptan) în care au loc un numar de interacţii

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

între solvent şi solvat. In acest caz, coeficientul de repartiţie reflectă desolvatarea moleculelor de apă din jurul solvatului, cât şi energia necesară ruperii legăturii de hidrogen solvat – apă. Acest sistem descrie adecvat repartiţia în sisteme biologice a substanţelor de tip alcool. Un alt caz este folosirea unui solvent cât mai apropiat de biofază. Hansch şi colab.au arătat că sistemul de solvent de referinţă care descrie cel mai adecvat comportamentul substanţelor în biofaza este *sistemul octanol / apă.* Funcţiunea – OH a octanolului funcţionează atât ca donor cât şi ca acceptor într-o legătură de hidrogen, reprezentând astfel un model excelent pentru a descrie interacţia cu biofaza. Acest model se utilizează atât pentru a descrie interacţiile de natură hidrofobă, nespecifică, dar se poate folosi şi atunci când legătura de hidrogen ocupă un loc important în interacţia substanţa – receptor (în acest caz, influenţa electronică a diferiţilor substituenţi asupra legăturii de hidrogen se reda cu ajutorul constanţelor σ Hammett).

Privind *constantele de substituent de hidrofobicitate,* π, acestea au fost calculate cu ajutorul relaţiei [7]:

$$\pi(X) = \log P(C_6H_5X) - \log P(C_6H_6) \qquad (5.44a)$$

Constantele π de substituent de hidrofobicitate, ca şi constantele σ sunt aditive, adică dacă mai mulţi atomi de H dintr-o structură particulară R sunt înlocuiţi prin substituenţi (X_1, X_2....), log P poate fi obţinut conform relaţiei:

$$\log P\,(RX_1X_2\ldots) = \log P\,(RHH\ldots) + \pi X_1 + \pi X_2 + \ldots \qquad (5.44b)$$

Concluzionând, se poate afirma că P şi π reprezintă parametri buni pentru descrierea interacţiilor hidrofobe. Când ecuaţia Hansch este aplicată unei serii de analogi structurali, atunci P poate fi înlocuit prin π.

Pentru descrierea interacţiilor electrostatice şi a celor existente în cazul legăturilor de hidrogen se folosesc constantele σ Hammett.

In tabelul 5.1.sunt listate constantele de substituent de hidrofobicitate π, constantele σ Hammett şi constantele Taft, E_s, pentru unii compuşi aromatici [7].

Tabel 5.1. **Constantele de substituent π, σ şi E_s pentru unii compuşi aromatici**

Substituent (X)	π	σ_{meta}	σ_{para}	E_s
H	0,00	0,00	0,00	1,24
F	0,14	0,34	0,06	0,78
Cl	0,71	0,37	0,23	0,27
Br	0,86	0,39	0,23	0,08
I	1,12	0,35	0,18	-0,16
NO_2	-0,28	0,71	0,78	-1,28
NH_2	-1,23	-0,16	-0,16	0,63
OH	-0,67	0,12	-0,37	0,69
CN	-0,57	0,56	0,66	0,73
CH_3	0,56	-0,07	-0,17	0,00
$CH_2CH_2CH_3$	1,55	0,07	-0,13	-0,36
C_6H_5	1,96	0,06	-0,01	-

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Ecuaţia Hansch, care a fost utilizată pentru prevederea efectelor biologice ale compusilor nestudiaţi sau nesintetizaţi încă a fost aplicată în diverse variante; alegerea formei celei mai convenabile pentru fiecare serie de compusi, s-a efectuat pe baza unor raţionamente statistice (calculul coeficientului de corelaţie şi al deviaţiei standard) [7].

5.1.4.1. Exemple de analiză Hansch în cazul unor poluanţi industriali

1. Anilina şi derivaţi

Utilizind ecuaţia Hansch, s-a studiat hidroxidarea anilinei şi a 11 derivaţi ai acesteia, proces care are loc în *microzomii din ficat, plămân şi rinichi* [7]. Grupul de derivaţi studiat a constat din 4 compuşi care diferă prin substituentul atomului de azot şi 7 compuşi care au diferiţi substituienţi în poziţia 3 a nucleului aromatic. Hidroxilarea anilinei şi a derivaţilor săi are loc în poziţia 4 (fig.5.3).

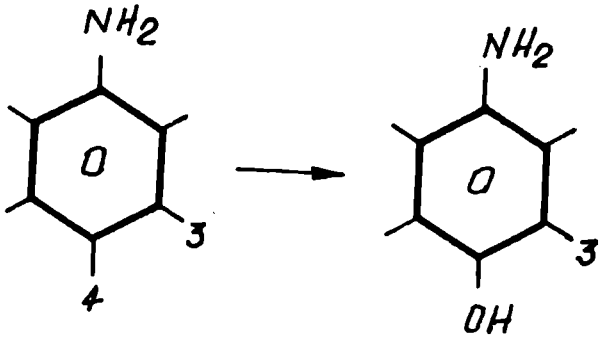


Fig.5.3. Hidroxilarea derivaţilor anilinei.

In tabelul 5.2. sunt date valorile parametrilor log P, Hσ, E_s şi log RB (răspunsul biologic reprezintă hidroxilarea compusilor studiaţi în microzomi).

Tabel 5.2. **Valorile log P, σ, E_s şi răspunsului biologic la derivaţi ai anilinei** [a]

Compus	log P	σ	E_s	log RB[b]	
				experimental	calculat[c]
H (anilina)	0,90	0,00	1,24	1,72	1,67
N – C_4H_9	3,16	0,00	1,24	2,31	2,33
N – C_3H_7	2,66	0,00	1,24	2,21	2,20
N – C_2H_5	2,16	0,00	1,24	2,14	2,06
N – CH_3	1,66	0,00	1,24	1,76	1,93
3 – Cl	1,88	0,37	0,27	1,71	1,64
3 – F	1,30	0,34	0,78	1,69	1,66
3 – Br	2,07	0,39	0,08	1,64	1,62
3 – I	2,37	0,35	- 0,16	1,58	1,62
3 – CH_3	1,40	- 0,07	0,00	1,50	1,41
3 – NO_2	1,37	0,71	- 1,28	0,88	0,94
3 – OCH_3[d]	0,93	0,12	0,69	0,57	1,53

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

a. Răspunsul biologic este reprezentat de hidroxilarea produsă în microzomii din ficat, plămân şi rinichi, la iepure
b. Răspunsul biologic este dat ca % de substrat transformat
c. Calculat din ecuaţia nr. 5.50 (tabel 5.3)
d. Acest compus nu a fost inclus în ecuaţiile QSAR datorită diferenţei mari între log RB experimental şi calculat

Dacă se aplică datelor din tabelul 5.2 analiza de regresie liniară multiplă pot fi obţinute, în principiu, şapte ecuaţii (tabelul 5.3).

Tabel 5.3. **Ecuaţiile QSAR obţinute prin aplicarea analizei de regresie liniară multiplă setului de date din tabelul 5.2.**

log RB = (n = 11)	Coef.de corelaţie (r)	Deviaţia standard (DS)	Nr. ecuaţiei
0,39 log P + 1,01	0,65	0,31	5.45
- 1,12 σ + 1,95	0,72	0,29	5.46
0,41E_s +1,52	0,88	0,20	5.47
0,31log P + 0,96 σ +1,32	0,89	0,20	5.48
0,27logP + 0,36E_s + 1,03	0,98	0,08	5.49
-0,07 σ + 0,40E_s + 1,54	0,88	0,21	5.50
0,27logP - 0,106 σ + 0,34E_s + 1,06	0,98	0,08	5.51

Se observă din tabelul 5.3 că cele mai bune corelaţii s-au obţinut în cazul ecuaţiilor (5.49) şi 5.51 (r = 0,98); totuşi ecuaţia (5.51) nu este mai buna decât ecuaţia (5.49) (valorile DS sunt aceleasi). Se poate trage concluzia că introducerea parametrului σ nu a condus la o ecuaţie mai buna. Cu alte cuvinte diferenţele privind distribuţia electronică datorate substituţiei în poziţia 3 nu influenţează gradul de hidroxilare. Se observă de asemeni că o descriere adecvată a datelor experimentale necesită utilizarea atât a coeficientului de repartiţie n – octanol / apă, P, cât şi a constantei sterice, E_s. Cu alte cuvinte, atât hidrofobicitatea (log P) cât şi factorii sterici (E_s) influenţează hidroxilarea. De asemeni, valorile coeficienţilor din ecuaţia (5.49) arată că RB descreşte când marimea substituentului creşte. Explicaţia dată acestui fapt a fost că prezenţa unor substituenţi voluminosi în poziţia 3, impiedică apropierea enzimei, rezultând o conversie slabă a substratului.

Comparând log RB calculat cu cel experimental se constată, în general, o bună corelaţie.

Din acest exemplu reiese că metabolismul acestor derivaţi ai anilinei poate fi descris adecvat cu ajutorul ecuaţiei Hansch. De asemeni, se consideră că ec. (5.49) poate fi utilizată în principiu pentru descrierea metabolismului derivaţilor netestaţi experimental ai anilinei.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2. *Insecticide organofosforice*

Ecuaţia Hansch a fost aplicată la o serie de esteri organofosforici (OP) ai căror substituenţi în poziţia para a nucleului fenil erau diferiţi (fig.5.4.) [7].

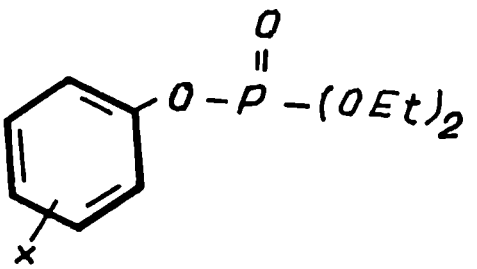


Fig. 5.4. Structura generală a esterilor OP luaţi în consideraţie în studiul QSAR.

Parametrii examinaţi au fost constanta de viteză a reacţiei de hidroliză, concentraţia de ester OP care a produs o inhibare de 50% a acetilcolinesterazei (AChE), CE_{50} şi DL_{50}. In tabelul 5.4. sunt date ecuaţiile obţinute având cei mai mari coeficienţi de corelaţie.

Tabel 5.4. **Ecuaţiile QSAR cu cei mai mari r, obţinute în cazul esterilor OP**

log RB	n	r	Nr. ecuaţiei
$\log K_{hidr} = 1{,}96\sigma^{-} - 6{,}62$	4	0,969	5.52
$\log 1/CE_{50}(AChE) = 2{,}49\sigma^{-} + 4{,}18$	8	0,985	5.53
$\log 1/DL_{50} = 0{,}26\pi + 2{,}42\sigma^{-} - 0{,}60$	8	0,987	5.54

Efectele σ se explică prin aceea că substituenţii pe nucleul fenil influenţează sarcina pozitivă a atomului de fosfor şi în consecinţă afinitatea pentru grupele OH din apă şi serina. In cazul corelaţiei cu valorile DL_{50} un rol important îl are termenul de hidrofobicitate, π, fapt explicat prin aceea că letalitatea, spre deosebire de procesul de hidroliză, implică şi fenomene de transport.

3. *Predicţia CL_{50} minim pentru compuşi organici*

Valorile CL_{50} experimental la peşti şi CL_{50} minim calculat pentru o serie de compuşi sunt date în tabelul 5.5 [7]. Primii doi compusi au o acţiune nespecifică de tip fizic, iar valorile CL_{50} minim au fost calculate utilizând o relaţie liniară între RB (in acest caz CL_{50}) şi logaritmul constantelor de repartiţie de tipul:

$$\log 1 / CL_{50} = 0{,}871 \log P - 4{,}87 \qquad (5.55)$$

$(r = 0{,}987)$

Această ecuaţie nu este aplicabilă la ceilalţi compuşi din tabel (s-au obţinut diferenţe semnificative între cei doi parametri) datorită acţiunii lor specifice, chimice. Astfel, clasificarea corectă a substanţelor, în funcţie de tipul lor de acţiune, reprezintă o problema esenţială în studiile de predicţie a toxicităţii.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabel 5.5. **Valorile CL_{50} experimental şi CL_{50} minim calculat, în cazul unor compuşi organici**

Compus	log P	CL_{50} minim μ mol.l^{-1}	CL_{50} (experimental) μ mol.l^{-1}
Metanol	- 0,79	$3,6 . 10^5$	$3,6 . 10^5$
3-Clortoluen	3,31	97	145
Dieldrin	5,30	1,8	0,017
Malation	2,82	257	4,0
Lindan	3,53	63	0,20
1,3 – Dinitrobenzen	1,53	3467	56
3,5 – Dicloranilina	2,42	578	24
α - Clortoluen	2,46	513	3,1

O explicaţie a folosirii unor relaţii liniare între activitatea biologică şi logaritmul coeficienţilor de repartiţie în cazul interacţiei nespecifice, ar putea fi că legătura substanţă – receptor nu se stabileşte într-un loc bine determinat pe receptor, forţele de legătură fiind de natură hidrofobă. In acest caz, reacţia determinantă de viteză are loc pe sau în peretele celular, adică nu este necesară decât o singură repartiţie din faza hidrofilă în faza lipofilă (faza celulară este lipofilă). Intr-o astfel de relaţie liniară, care se poate scrie sub forma generală:

$$\log\frac{1}{C} = k_2\pi + k_5 \qquad (5.56)$$

k_2 arată cât de sensibil este testul biologic la variaţia caracterului hidrofob al membrilor seriei studiate; k_5 depinde de raportul dintre centrii activi de pe receptor şi numarul de molecule de substrat (poluant) aflate în poziţii favorabile să interacţioneze cu aceşti centri.

Un numar foarte mare de ecuaţii (v. 5.56) se pot aplica în procesele de hidroliză, fapt ce confirma dependenţa liniară între activitatea biologică şi caracterul hidrofob al substanţelor în cazul proceselor care se desfăşoară în membrana celulară.

4. Toxicitatea fenolilor

Hansch şi colab. au studiat inhibiţia malat- dehidrogenazei de către fenoli. S-a obţinut un coeficient de corelaţie bun, atunci când s-au omis din serie derivaţii meta- substituiţi, obţinându-se o dependenţă parabolică faţă de constantele σ şi π:

$$- \log I = 0,73\sigma^2 - 0,77\,\pi^2 - 0,65\,\sigma + 2,44\,\pi + 3,47 \qquad (5.57)$$
$$r = 0,952$$

In multe cazuri, parametrii fizico–chimici utilizaţi în ecuaţia generală a lui Hansch nu reflectă satisfăcător modul de interacţie substanţa–receptor. De aceea s-au încercat diverse modificaţii ale ecuaţiei Hansch constând din dependente liniare sau pătratice de constanta π şi / sau σ simultan cu dependente de diferite

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

mărimi fizico-chimice ca de ex.constanţa Taft, momentul de dipol, energia primului orbital molecular liber [201, 202]. Utilizarea momentului de dipol în ecuaţiile de regresie arată că între molecula organică şi receptor se stabilesc legături intermoleculare de tipul dipol-sarcina de pe receptor. Un exemplu de substanţe în cazul cărora s-a utilizat momentul de dipol pentru a descrie relaţia structură- activitate biologică îl constituie derivaţii de tip amidic cu acţiune asupra sistemului nervos central.

O ecuaţie unică pentru a descrie toxicitatea tuturor grupelor de substanţe nu există încă. Totusi, ecuaţia Hansch a fost şi continuă să fie aplicată la diverse efecte şi substanţe, deoarece poate furniza indicaţii despre mecanismul de acţiune.

5.2. METODA FREE – WILSON

Spre deosebire de analiza Hansch, metoda Free – Wilson nu se bazează pe proprietăţile fizico-chimice, ci ia în considerare numai *structura* compuşilor. Ideea care stă la baza acestei metode este că efectul unui sustituent asupra activităţii biologice este aditiv şi independent de prezenţa altor substituenţi. Cu alte cuvinte, activitatea biologică a unei substanţe se exprima aditiv în funcţie de activităţile "de grup" ale substituenţilor grefaţi. Metoda Free – Wilson se bazează pe urmatoarea ecuaţie generală:

$$RB = \sum(A_{ij}S_{ij}) + k \qquad (5.58)$$

unde: RB = răspunsul biologic

A_{ij} = contribuţia la RB a unui substituent i aflat în poziţia j

S_{ij} = indică dacă substituentul i este prezent în poziţia j (S= 1) sau nu (S = 0)

Pentru aplicarea metodei Wilson, datele biologice trebuie să îndeplinească urmatoarele condiţii:

- compuşii studiaţi trebuie să fie suficient de asemanatori d.p.d.v. al structurii pentru a se putea presupune un mecanism constant de acţiune;
- datele privind activitatea biologică trebuie să fie cantitative, precise şi măsurate în condiţii uniforme pentru toţi compusii seriei studiate;
- contribuţiile de grup ale parametrului ales trebuie să fie aditive

De asemeni, este necesar să se utilizeze un numar cât mai mare de date pentru ca rezultatul metodelor statistice să fie semnificativ.

S-a încercat o combinare a metodelor Free-Wilson şi Hansch în studiile de predicţie a valorilor DL_{50} la şobolan [7]. Pentru calculul valorilor DL_{50} în cazul a 425 compuşi s-a utilizat urmatoarea ecuaţie QSAR:

$$\log 1/DL_{50} = a \log P + b M + C_1X_1(i) + C_2X_2(i) + \ldots + C_{27}X_{27}(i) + d \qquad (5.59)$$

unde: P = coeficientul de repartiţie octanol – apă

M = masa moleculară

$X_1, X_2, \ldots, X_{27}$ = factori corespunzând caracteristicilor structurale particulare

X = 1 sau 0 dacă un anumit fragment structural este prezent sau nu într-un anumit compus.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Exemple ale acestor fragmente structurale includ grupele nitro şi carbonil. Această ecuaţie a fost rezolvată prin analiza de regresie liniară multiplă, calculându-se coeficienţii a, b, $C_1 - C_{27}$ şi d; coeficientul de corelaţie obţinut a fost 0,702.

Această abordare a fost criticată datorită faptului că un număr mare de compusi, având diferite structuri şi mecanisme de acţiune, au fost inclusi într-o singură ecuaţie. Această metoda nu este utilizată frecvent în practică pentru predicţia valorilor DL_{50}.

5.3. METODA DE CORELARE STRUCTURĂ – EFECT

Metoda de corelare structură – efect (pattern recognition method) se utilizează, aşa cum s-a amintit la începutul capitolului, pentru stabilirea relaţiilor calitative între un set de "descriptori moleculari" ai structurii unui compus şi prezenţa sau absenţa unui anumit efect biologic. Fiecare moleculă este caracterizată de un numar N de descriptori posibili care conduce la un set de date pentru un numar de compusi n. Analiza statistică decide care din aceşti descriptori moleculari determina prezenţa sau absenţa efectului. Această metoda a fost aplicată la date privind carcinogenitatea aminelor şi a hidrocarburilor aromatice policiclice.

5.4. CALCULUL INDICILOR DE REACTIVITATE

5.4.1. Metode de calcul a indicilor de reactivitate

Rezultatele metodelor de calcul ale chimiei cuantice conduc la obţinerea energiilor electronilor din moleculă şi a funcţiilor lor de unda. Cunoscând valorile acestor marimi se obţin informaţii asupra potenţialelor de ionizare, afinităţii pentru electron, spectrelor electronice şi reactivităţii chimice.

Principalele metode de calcul folosite vor fi sumarizate în cele ce urmează.

a. Metoda Hückel

Această metoda este larg utilizată pentru studiul sistemelor conjugate. Metoda introduce în calcul numai electronii π ai unui sistem molecular. De asemeni, este neglijată repulsia dintre electroni, folosindu-se un hamiltonian monoelectronic efectiv nedefinit ca forma. In cazul în care în molecula există heteroatomi (X), aceştia sunt caracterizaţi de doi parametrii: parametrul *coulombian*, h_x, care este corelat cu diferenţa de electronegativitate între atomul X şi atomul de carbon şi parametrul de *rezonanţa* k_{CX}. Parametrul k_{CX} s-a încercat a se corela cu energiile de legătură conform relaţiei:

$$k_{CX} = \frac{E_{C=X} - E_{C-X}}{E_{C=C} - E_{C-C}} \qquad (5.60)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

dar această relaţie a condus la rezultate nesatisfăcătoare, datorită incertitudinii în valorile energiilor de legătură. S-a încercat de asemeni să se obţina valorile k_{CX} pe baza dependeţei între integrala de rezonanţă, β_{C-X} , şi distanţa dintre atomi:

$$\beta_{C-X} = f(r_{C-X}) \qquad (5.61)$$

precum şi pe baza proporţionalităţii dintre integralele de rezonanţă şi integralele de acoperire [203]:

$$\frac{\beta_{C-X}}{\beta_{C-C}} = \frac{S_{C-X}}{S_{C-C}} \qquad (5.62)$$

unde: S_{C-X} = integrala de acoperire dintre orbitalele π ale atomilor C şi X.

S_{C-C} = integrala de acoperire dintre orbitalele π a doi atomi de carbon

Valorile parametrilor h_X şi k_{CX} se aleg astfel încât rezultatele calculate să fie cât mai apropiate de cele experimentale.

b. ***Metoda SCF – Pariser – Parr – Pople (SCF – PPP)***

Metoda semiempirică SCF – PPP introduce în calcul repulsia dintre electroni. Această metoda a fost elaborată de Roothaan, apoi Pople, Pariser, şi Parr au introdus o serie de aproximaţii pentru a evalua diferitele elemente ale operatorului de energie din date experimentale [203]. Pentru a efectua calcule utilizând această metodă sunt necesare diverse mărimi ca de ex. potenţialele de ionizare (I_X), afinităţile pentru electron (A_x), integralele de repulsie mono- şi bicentrice (γ_{XX}, γ_{CX}), integralele de rezonanţă între atomii vecini (β_{CX}).

c. Metoda Del Re

Aşa cum s-a amintit, metodele Hückel şi SCF – PPP iau în considerare numai electronii π. Utilizarea metodelor CNDO, MINDO, INDO etc. pentru a evalua contribuţia electronilor σ şi π nu este adecvată în cazul sistemelor biologice, dată fiind complexitatea acestora. De aceea, contribuţia electronilor σ trebuie considerată cu ajutorul metodei Del Re [203].

In cadrul acestei metode, se dau formule aproximative pentru calculul deplasărilor de sarcina între doi atomi şi al energiilor de legătură. Sarcina efectivă se calculează, în fracţiuni de sarcini electronice, ca fiind suma sarcinilor de legătură la atomul respectiv. Parametrii folosiţi în calcul depind de diferenţa între electronegativitatea standard a atomului considerat şi electronegativitatea standard a hidrogenului, de tăria legăturii σ considerate şi de efectele inductive ale atomilor.

5.4.2. Indici de reactivitate

Discutarea reactivităţii chimice se bazează pe admiterea a doua aproximaţii pentru starea de tranziţie şi anume o aproximaţie statică şi o aproximaţie dinamică. Compararea reactivităţii diferitelor poziţii ale unei molecule faţă de un reactant se realizează utilizând indicii de reactivitate.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.4.2.1. Aproximaţia statică (modelul moleculelor izolate)

In această aproximaţie se consideră reactivitatea chimică a moleculei funcţie de structura ei electronică şi neinfluenţată de interacţia cu alt reactant (starea de tranziţie este similară cu aceea a substratului). Acest model, denumit *static*, este adecvat cazurilor când starea de tranziţie se atinge foarte repede (substratul se transformă rapid). Indicii statici de reactivitate calculaţi cu ajutorul funcţiilor de unda şi ale energiilor reactantului sunt următorii [203]:

- *densitatea de electroni* π (q_μ), este definită de relaţia:

$$q_\mu = \sum_{i=1}^{N} c_{i\mu}^2 \cdot n(i) \qquad (5.63)$$

unde: $c_{i\mu}$ = coeficientul orbitalei atomului μ în orbitalul molecular i

n(i) = numarul electronilor π în orbitalul molecular i

Acest indice este utilizat mai ales pentru moleculele cu heteroatomi, în care, datorită efectelor inductive şi mezomere ale acestora pot exista diferenţieri ale distribuţiei sarcinii în molecula şi deci diferenţieri privind reactivitatea diferitelor poziţii.

- *sarcina netă de electroni* π (Δq_μ) dată de ralaţia:

$$\Delta q_\mu = Z_\mu - q_\mu \qquad (5.64)$$

unde Z_μ = numarul de electroni π introduşi în conjugare de atomul μ

q_μ = densitatea de electroni π a atomului μ

Un atac electrofil este favorizat în poziţiile care au sarcina netă de electroni π mai mare.

- *sarcina efectivă* σ (ρ_μ^σ):

$$\rho_\mu^\sigma = \sum_\upsilon Q_{\upsilon\mu} \qquad (5.65)$$

unde $$Q_{\upsilon\mu} = (\delta_\upsilon - \delta_\mu)/2\eta_{\upsilon\mu} \qquad (5.66)$$

$\delta_\upsilon, \delta_\mu$ = electronegativităţile orbitalelor υ, respectiv μ

$\eta_{\upsilon\mu}$ = parametru corelat cu tăria legăturii σ

- *sarcina totală* (ρ):

$$\rho = \rho_\mu^\sigma + q_\mu \qquad (5.67)$$

- *ordinul de dublă legătură* $\pi(P_{\mu\upsilon})$ este definit prin relaţia:

$$P_{\mu\upsilon} = \sum_i n(i) \cdot c_{i\mu} \cdot c_{i\upsilon} \qquad (5.68)$$

în care: $c_{i\mu}, c_{i\upsilon}$ = coeficienţii orbitalelor atomice μ şi υ în orbitala moleculară (OM)i

n (i) = numarul de electroni din această orbitală i; n(i) = 2 pentru OM dublu ocupate; n(i) = 1 pentru OM monoocupate; n(i) = 0 pentru OM libere.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Acest indice arată gradul de delocalizare al electronilor π în lungul legăturii μυ. Ordinul de legătură dublă da informaţii asupra reactivităţii moleculei în cazul în care este implicată dubla legătură.

- *indicele de valenţă liberă (I_μ):*

$$I_\mu = \sqrt{3} - \sum_{\upsilon} P_{\mu\upsilon} \qquad (5.69)$$

Indicele de valenţă liberă caracterizează reactivitatea moleculelor în reacţiile de tip radicalic şi arată capacitatea unui atom implicat în legături delocalizate de a mai reacţiona.

- *autopolarizabilitatea atom – atom ($\pi_{\mu\mu}$):*

$$\pi_{\mu\mu} = 4 \sum_{i=1}^{N/2} \sum_{j=N/2+1} \frac{c_{i\mu}^2 \cdot c_{j\mu}^2}{\varepsilon_i - \varepsilon_j} \qquad (5.70)$$

unde ε_I, ε_j = energiile orbitalelor moleculare i şi j.

Acest indice furnizează informaţii privind capacitatea diferiţilor atomi dintr-o moleculă de a se polariza sub acţiunea unui câmp exterior.

5.4.2.2. Aproximaţia dinamică

In acest model se consideră că molecula interacţionează cu reactantul, formand un complex activat cu acesta, a cărui stare diferă de aceea a reactanţilor. Se consideră că se formează un complex σ (numit complex Wheland) în care se stabileşte o legătură σ între atomul de carbon la care are loc substituţia (şi care face parte dintr-un ciclu aromatic) şi reactantul nucleofil sau electrofil. Ca urmare a apariţiei legăturii σ, acest atom de carbon este scos din conjugare, iar structura stării de tranziţie are (n-2) electroni delocalizaţi pe (n-1) centri în cazul substituţiei electrofile sau (n+2) electroni dispusi, pe (n-1) centri în cazul substituţiei nucleofile.

S-au definit urmatorii indici dinamici de reactivitate:

- *energia de localizare (L_μ)* este definită de relaţia:

$$L_\mu = b - b_\mu^* \qquad (5.71)$$

unde b = energia electronilor π în molecula considerată

b_μ^* = energia electronilor π în complexul activat, considerând că poziţia atacată este μ.

In reacţiile de adiţie se definesc energiile de *paralocalizare şi ortolocalizare* ca reprezentând diferenţa dintre energia π a moleculei iniţiale şi energiile π ale fragmentelor obţinute prin întreruperea conjugarii datorită adiţiei în poziţia para, respectiv orto.

Cu cât energia de localizare pentru o anumită poziţie are o valoare mai mică, cu atât atacul reactantului va fi mai probabil în acea poziţie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- *densitatea electronului de frontieră (F_μ)* (se calculează folosind marimi proprii moleculei izolate) este dată de urmatoarea ecuaţie:

$$F_\mu^E = 2c^2_{\mu\text{-h·o·m·o}} \tag{5.72}$$

$$F_\mu^N = c^2_{\mu\text{-l·e·m·o}} \tag{5.73}$$

în care h.o.m.o = ultimul orbital molecular ocupat
l.e.m.o = primul orbital molecular liber

- *superdelocalizabilitatea (S_μ):*

$$S_\mu^E = \sum_i n_i \frac{c_{i\mu}^2}{(-x_i)} \tag{5.74}$$

$$S_\mu^N = \sum_i (n_i - 2)\frac{c_{i\mu}^2}{(-x_i)} \tag{5.75}$$

$$S_\mu^R = \sum_i (n_i - 1)\frac{c_{i\mu}^2}{(-x_i)} \tag{5.76}$$

Densitatea electronului de frontieră şi superdelocalizabilitatea corespund unei aproximaţii perturbaţionale a energiei de localizare. Conform acestei aproximaţii, cea mai mare contribuţie la energia de localizare o aduce ultimul orbital molecular ocupat în cazul unei substituţii de tip electrofil, sau primul orbital molecular liber în cazul unei substituţii nucleofile.

- *energia de stabilizare la atomul* μ (ε_μ) *[203]:*

$$\varepsilon_\mu^+ = \sum_{i=1}^{N/2} 2\varepsilon_i c_{i\mu}^2 - c^2_{\text{hom}o,\mu}\varepsilon_{\text{hom}o} \tag{5.77}$$

$$\varepsilon_\mu^- = \sum_{i=1}^{N/2} 2\varepsilon_i c_{i\mu}^2 - c^2_{\text{lemo},\mu}\varepsilon_{\text{lemo}} \tag{5.78}$$

- *indicele Brown pentru reacţia de nitrare (Z_μ) [203]:*

$$Z_\mu = 2 + x_i + \frac{2(0{,}61)^2 c_{i\mu}^2}{2 + x_i} \tag{5.79}$$

In cazul când indicele Brown se utilizează pentru alte relaţii de substituţie electrofilă, trebuie să se înlocuiască coeficienţii 2 şi 0,61.

5.5. APLICABILITATEA METODELOR QSAR ÎN TOXICOLOGIE

Una din problemele importante care se ridică este dacă tehnicile QSAR pot fi utilizate în scopuri practice, de ex. pentru luarea unor decizii în cazul substanţelor toxice noi apărute în industrie. In principiu nu este recomandabil ca experimentele pe animale să fie înlocuite prin calcule pentru evaluarea toxicităţii sau pentru estimari calitative (de ex.estimarea potenţialului cancerigen al unei

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

substanţe chimice). Abordarea Hansch precum şi metoda de corelare structura-efect implică unele incertitudini. De aceea nu este indicată utilizarea lor pentru furnizarea de standarde sau pentru obţinerea de informaţii în scopul luarii unor decizii (de ex.interzicerea apariţiei unor substanţe noi pe piaţă). In acest sens, în Europa, se insistă, în cazul apariţiei de substanţe noi în industrie, pe studii de toxicitate prin experimente pe animale. In schimb, în S.U.A. se adoptă un punct de vedere diferit. Agenţia Americană de Protecţie a Mediului (EPA) utilizează datele QSAR în politica sa privind acceptarea în uz a noilor substanţe chimice. Pe baza datelor QSAR obţinute se iau ulterior decizii privind oportunitatea unor studii experimentale suplimentare.

Există un numar de cazuri în care metodele QSAR sunt recomandate şi anume:

- în evaluarea toxicităţii unui numar mare de substanţe existente (aproximativ 60000) pentru care există date insuficiente. Utilizând relaţiile structură chimică-activitatea biologică este posibilă o alegere prioritară, în vederea testării în experimente pe animale, a acelor substanţe care prezintă o toxicitate crescută.
- în determinarea domeniului concentraţiilor care include CL_{50}, înainte de efectuarea unui experiment CL_{50}
- predicţia toxicităţii substanţelor nesintetizate încă în scopul luarii deciziilor privind oportunitatea sintezei acestora. De ex. rezultatele unui studiu QSAR care prevede potenţialul cancerigen sau de bioconcentrare în organismele acvatice al unui compus, reprezintă un argument serios pentru a se renunţa la sinteza compusului respectiv.
- o serie de parametri obţinuţi în studiile QSAR furnizează informaţii asupra mecanismului de acţiune al substanţelor în mediul biologic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

6. CALCULUL TOXICITĂŢII ŞI AL LIMITELOR ADMISE ALE POLUANŢILOR INDUSTRIALI DIN DATE FIZICO-CHIMICE

O serie de studii au realizat predicţia toxicităţii substanţelor chimice pe baza unor corelaţii fie a) între proprietăţile fizico-chimice şi indicii de toxicitate, fie b) între indicii de toxicitate şi nivelele permise ale substanţelor în mediu. Aspectele cantitative ale acestor corelaţii s-au exprimat prin analiza de regresie [7].

a) O serie de ecuaţii de regresie între CL_{50} şi masa moleculară, punctul de fierbere, punctul de topire şi densitatea compuşilor organici volatili având temperatura de fierbere sub 165^0 C au fost date de Golubev [204]:

$$\log CL_{50}(mM/l) = 0{,}08 - 0{,}011M$$
$$\log CL_{50}(mM/l) = 0{,}02 - 0{,}009\ t_{fierbere} \qquad (6.1)$$
$$\log CL_{50}(mM/l) = 1{,}6 - 0{,}010\ t_{topire}$$
$$\log CL_{50}(mM/l) = 0{,}11 - 0{,}20\ d$$

unde M = masa moleculară

$t_{fierbere}$ = temperatura de fierbere

t_{topire} = temperatura de topire

d = densitatea

Au fost stabilite de asemeni ecuaţii pentru calculul concentraţiilor maxime admise (CMA) din parametri fizico-chimici [1]:

$$\log CMA(mg/m^3) = 1{,}12 - 0{,}58\ G + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 14{,}2 - 10\ n_D + \log M$$
$$\log CMA(mg/m_3) = -1{,}2 - 0{,}012\ t_{topire} + \log M \qquad (6.2)$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 0{,}6 - 0{,}01\ t_{fierbere} + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 1{,}6 - 2{,}2\ d + \log M$$

unde: G = tensiunea superficială

n_D = coeficientul de refracţie

Relaţiile (6.2) au fost utilizate pentru compusi organici cu M = 30 – 300; d = 0,6 – 2,0; $t_{fierbere}$ = -100- +300^{0}C; t_{topire} = -190 -+180^{0}C; n_D = 1,3 – 1,6.

Relaţii între CMA şi coeficientul de repartiţie pentru hidrocarburi clorurate (tetraclorura de carbon şi o – diclorbenzenul se exclud) au fost exprimate prin urmatoarele ecuaţii [205]:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

$y = 3,6831 - 0,5293x$ cu

$Z = 0,8788$; $n = 12$; $Sr = 0,7738$ (6.3)

unde Z = coeficientul de corelaţie

n = numarul de probe

x = logaritmul coeficientului de repartiţie

y = logaritmul CMA

Sr = suma reziduală a pătratelor, datorită regresiei liniare

Filov şi Ljublina [15, 193] au corelat, pentru *218 substanţe toxice industriale* (hidrocarburi alifatice saturate, cetone saturate, alcooli, eteri alifatici, esteri, hidrobarburi ciclice saturate, hidrocarburi cu legătură triplă, amine alifatice, anilina şi derivaţi, anhidride acide, compusi ciclici conţinând o grupa NO_2, compusi conţinând grupa ONO_2 , compusi cu legătură dublă sau triplă având şi una din urmatoarele grupe funcţionale: Cl, Br, F, NO_2, OH, substanţe conţinând o grupă epoxi, compusi organofosforici, aldehide) urmatorii *3 indici de toxicitate*: CL_{50} dupa o expunere de 2 ore, şi pentru o perioada de observaţie de 7 zile, CN_{50} (concentraţia narcotică) după o expunere de 2 ore, C_{lim} (concentraţia limită care a produs modificări convulsive la iepuri după o expunere de 40 minute) cu *37 proprietăţi fizico-chimice* ale acestor toxice. Lista proprietăţilor fizico- chimice utilizate în acest studiu şi a domeniilor corespunzătoare de valori este prezentată în tabelul 6.1 [15].

Tabel 6.1. **Proprietăţile fizico- chimice şi valorile acestora utilizate în studiul lui Filov şi Ljublina**

Nr. crt.	Simbol	Denumire	Unităţi de măsură	Condiţii în care au fost măsurate valorile	Domeniu de variaţie al proprietăţii considerate
0	1	2	3	4	5
1.	M	Masa moleculară	-	-	28 – 280
2.	ρ	Densitate	g/cm^3	20^0C; comparată cu apa la 40^0C	0,645 – 2,89
3.	V_m	Volum molar	cm^3/mol	-	36,8 – 223,0
4.	n_D	Indice de refracţie	-	20^0C	1,283 – 1,685
5.	R_m	Refracţie molară	cm^3/mol	-	6,7 – 52,0
6.	t_{topire}	Punct de topire	^0C	-	- 190 - + 178
7.	$t_{fierbere}$	Punct de fierbere	^0C	760mm Hg	-103 - + 258
8.	p	Presiunea vaporilor saturaţi	mm Hg	25^0C	$0,15 - 10^5$
9.	p_t	Presiunea vaporilor saturaţi	mm Hg	la temperatura t_{ech}	429 – 1324
10.	t_{ech}	Temperatura de echilibru	^0C	1 mol de vapori ai substanţei într-un volum de 22,414 l şi vapori şi lichid în echilibru	- 113 - + 239

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

0	1	2	3	4	5
11.	dt/dp_t	Variaţia temperaturii de fierbere cu presiunea	^0C/mm Hg	25^0C	0,02 – 82
12.	dt/dp_p	Variaţia temperaturii de fierbere cu presiunea	^0C/mm Hg	10 mm Hg	0,33 – 0,58
13.	ρ_c	Densitate critică	g/cm^3	-	0,230 – 0,776
14.	t_c	Temperatura critică	^0C	-	92 – 611
15.	p_c	Presiune critică	atm	-	0,230 – 0,776
16.	L_f	Căldura latentă de formare	Kcal/mol	-	0,4 – 5,0
17.	L_{vap}	Căldura latentă de vaporizare	Kcal/mol	la temperatura de fierbere	3,2 – 12,0
18.	L_{comb}	Căldura de combustie	Kcal/mol	la presiune const.si 25^0C	63 – 3963
19.	L_{form}	Căldura de formare în stare gazoasă	Kcal/mol	25^0C	- 90 - + 44
20.	ΔA_{form}	Energie Helmholz de formare în stare gazoasă	Kcal/mol	-	- 84,0 - + 89,4
21.	log k	Logaritmul coeficientului de repartiţie ulei / apă	-	-	-1,5- 55
22.	log λ	Logaritmul coeficientului de repartiţie apă/aer	-	-	-1,72 - + 4,7
23.	σ	Tensiunea superficială	dyne/cm	20^0C	12,5 – 51,0
24.	υ	Vâscozitatea cinematică	centi-Stokes	20^0C	0,2 – 108
25.	η	Vâscozitatea dinamică	centi-Poise	20^0C	0,2 – 143
26.	S	Solubilitate	mmol/l	20^0C	0 - ∞
27.	C_p	Căldura specifică	cal/mol^{0}K	27^0C şi pres.const.	15,6 – 119,6
28.	C'_p	Căldura specifică de vaporizare	cal/mol^{0}K	25^0C	8,5 – 50,6
29.	λ	Conductivitate termică	cal/cms^{0}C	Lichid	(0,24 – 0,65) x 10^5
30.	P_a	Polarizare atomică	cm^3	-	0,4 – 6,7
31.	[P]	Parachor	-	Calculat	99 – 402
32.	μ	Moment electric de dipol	Debye	25^0C; soluţie în benzen	0 – 4,3 x 10^{-9}
33.	ε	Constanţa dielectrică	-	Mas.la o frecvenţă de 10^5	1,8 – 58,0
34.	V_s	Volum specific	Cm^3/g	25^0C	58 – 256
35.	V_i	Potenţial de ionizare	Electron volt	-	7,7 – 12,4
36.	E_l	Entropia lichidului	cal/mol^{0}C	25^0C	33,1 – 93,9
37.	S_v	Entropia gazului	cal/mol^{0}C	25^0C	52 - 120

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Filov a clasificat cele 37 de proprietăţi fizico-chimice menţionate în tabelul 6.1 în urmatoarele trei clase:

1). proprietăţi determinate de nivelul supermolecular al organizării substanţei: ΔA_{form}, S_g, S_l, $\frac{dt}{dp_t}$, $\frac{dt}{dp_p}$;

2). proprietăţi raportate la nivel molecular:

a^0) proprietăţi raportate la structura moleculară: M, ρ, V, [P];

b^0) proprietăţi raportate la energia cinetică (sau vibraţională a moleculei): p_c, C_p, C_p^v;

c^0) proprietăţi raportate la energia de interacţie moleculară

i) intramoleculară: t_{fierb}, t_{topire}, t_c, t_{ech}, p, p_t, L_{vap}, L_{form};

ii) intermoleculară: L_{comb}, S, log λ, log k;

3). proprietăţi raportate la nivel nuclear-electronic [15]: n_D, P_a, μ, ε, V_s.

Autorii au constatat că proprietăţile cele mai strâns asociate cu indicii ce exprima activitatea biologică au fost M, ρ, t_{topire}, $t_{fierbere}$ şi n_D şi au calculat CMA utilizând valorile acestor mărimi cu ajutorul urmatoarelor ecuaţii:

$$\log CMA(mg/m^3) = 0,4 - 0,01M + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 1,6 - 2,2\rho + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 14,2 - 10\, n_D + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 0,6 - 0,01\, t_{fierbere} + \log M \qquad (6.4)$$
$$\log CMA(mg/m^3) = -1,2 - 0,012\, t_{topire} + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 0,48 \log \rho - 1,0 + \log M$$

Se menţionează că proprietăţile fizico-chimice utilizate în calculul CMA trebuie să fie uşor măsurabile, iar corelaţia între aceste proprietăţi şi indicii biologici trebuie să fie puternică pentru compuşi volatili. Aceste condiţii au fost îndeplinite numai pentru t_{topire}, $t_{fierbere}$ şi M. Ecuaţiile pentru calculul CMA, pentru compuşii organici usor volatili, aparţinând diverselor clase funcţionale, utilizând numai trei proprietăţi fizico-chimice (t_{topire}, $t_{fierbere}$,, M) sunt prezentate în tabelul 6.2.

Tabelul 6.2. **Corelaţii între CMA, t_{topire}, $t_{fierbere}$, şi M pentru compuşi organici uşor volatili.**

Substanţa	Nr.de perechi	Coef.de corelaţie	Proba-bilitate	Deviaţie medie	Ecuaţie log CMA=
0	1	2	3	4	5
Hidrocarburi	42	- 0,65	<0,001	0,70	0,99 – 0,012 M
	42	- 0,71	<0,001	0,65	0,41-0,006 $t_{fierbere}$
	34	- 0,62	<0,001	0,73	- 0,72-0,007 t_{topire}
Alcooli monohidroxilici saturaţi	18	- 0,56	<0,02	0,85	1,00-0,015 M
	17	- 0,68	<0,01	0,77	1,41-0,012 $t_{fierbere}$
	10	- 0,66	<0,05	0,77	- 0,47-0,008 t_{topire}
Compuşi nitro- fără legături nesaturate în lanţ deschis	25	- 0,72	<0,001	0,71	0,15-0,013 M
	16	- 0,70	<0,001	0,69	- 0,01-0,008 $t_{fierbere}$
	21	- 0,67	<0,001	0,71	-1,67-0,009 t_{topire}

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

0	1	2	3	4	5
Amine, nitroamine şi alţi derivaţi aminici	40	- 0,50	=0,001	0,56	-1,04-0,006 M
	31	- 0,49	<0,01	0,61	-1,18-0,003 $t_{fierbere}$
	27	- 0,52	<0,01	0,58	-1,62-0,004 t_{topire}
Hidrocarburi clorurate	35	- 0,61	<0,001	0,77	0,12-0,11 M
	32	- 0,51	<0,01	0,83	- 0,57-0,007 $t_{fierbere}$
	22	- 0,63	<0,01	0,58	-1,60-0,009 t_{topire}

Pentru compuşi greu volatili, autorii au considerat că valorile CMA sunt mai puţin dependente de propietăţile fizice ale substanţei, comparativ cu compusii usor volatili.

b) Exactitatea prognozei CMA-urilor este mult mai mare daca se utilizează indicii de toxicitate acută în locul caracteristicilor fizico-chimice.

In acest sens, s-au stabilit urmatoarele ecuţii [204, 206]:

- pentru compusi organici volatili:

$$\log CMA(mM/m^3) = 0,72 \log CL_{50}(mM/l) - 0,31 \quad (6.5)$$

$$\log CMA(mM/m^3) = 0,88 \log DL_{50}(mM/l) - 2,29$$

- pentru pesticide greu volatile şi nevolatile :

$$\log CMA(mg/m^3) = 0,008 \log DL_{50}(mg/kg) \quad (6.6)$$

- pentru pesticide organofosforice greu volatile şi nevolatile:

$$\log CMA(mg/m^3) = 0,6 \log DL_{50}(mg/kg) - 3,0 \quad (6.7)$$

- pentru pesticide clorurate:

$$\log CMA(mg/m^3) = 1,2 \log DL_{50}(mg/kg) - 3,4 \quad (6.8)$$

După unii autori [206, 207] există unele corelaţii între limitele admise ale substanţelor toxice în diferite medii ca exemplu aerul industrial, aerul ambiental, apă şi alimente. Concentraţia medie admisă (CA) în aerul ambiental, pentru compusi organici cu diferite structuri, poate fi calculată din CMA stabilită în condiţii de mediu industrial, dupa relaţia :

$$\log CA_{aer\ amb}(mg/m^3) = - 3,9571 + 0,5439 \ln CMA_{ind}(mg/m^3) \quad (6.9)$$

cu $r = 0,5793$; $p < 0,001$; $n = 62$

unde r = coeficientul de corelaţie

n = numar de probe

S-a calculat de asemeni concentraţia medie admisă a substanţelor toxice în apă (CA_{apa}) din concentraţia medie admisă în condiţii industriale (CA_{ind}) :

$$\ln CA_{ind}\ (mg/m^3) = - 1,9485 + 0,4754 \ln CA_{apa}\ (mg/l) \quad (6.10)$$

cu $r = 0,4039$; $p<0,01$; $n = 48$

Nivelul pesticidelor reziduale în alimente s-a calculat utilizind formule simple [206]:

- pentru pesticide organosforice:

$$CA_{p.r.} = 1,45\ CA_{apa} + 0,68 \quad (6.11)$$

- pentru pesticide clorurate:

$$CA_{p.r.} = 2,22\ CA_{apa} + 0,33 \quad (6.12)$$

unde $CA_{p.r.}$ = concentraţia admisă de pesticid rezidual (mg/kg)

CA_{apa} = concentraţia admisă a acestui pesticid în apă (mg/l).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOGRAFIE

1. * * * *Evaluation and risk assessment of chemicals. European Cooperation on Environmental Health Aspects of Control of Chemicals – Interim Document* 6, Proceedings of a Seminar, Lodz, Poland, 1-6 Sept. 1980. A Gilad, S. Tarkowski eds. WHO, Regional Office for Europe, Copenhagen, 177-186, 1982.
2. Niculescu T. *Manual de patologie profesională,* vol. I. Editura Medicală, Bucureşti 1985.
3. Manu P., Niculescu T. *Practica medicinii muncii.* Editura Medicală, Bucureşti 1978.
4. Cotrau M., Popa I., Stan T., Preda N., Kincses-Ajtay M. *Toxicologie.* Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti 1991.
5. * * * *World Health Organization. IUTOX Training Course on Basic Toxicology.* Budapest 1997.
6. * * * *World Health Organization. Combined Exposures to Chemicals in Work and Community Environments. European Cooperation on Environmental Health Aspects of the Control of Chemicals.* Interim Document 11. WHO. Regional Office for Europe. Copenhagen, 77-196, 1983.
7. * * * *Toxicology, Principles and Application .Niesnik* R. J. M., Vries J., Hollinger M. A. eds..CRC Press. New York, London, Tokyo, 1996.
8. Moţoc I. *Structura moleculelor şi activitatea biologică.* Editura Facla, Timişoara 1980.
9. * * * *Respiratory Toxicology and Risk Assessment.* Jenkins P. G., Kayser D., Muhle H., Rosner G., Smith E. M. eds. Proc. Int. Symp., Wiss. Verl – Ges. Stuttgard 1994.
10. * * * *Principles and Methods of Toxicology.* Hayes A. W. ed., Raven Press, New York, 2nd Ed., 1989.
11. * * * *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology.* Clayton G. D., Clayton F. E. eds. Vol. 1-3 John Wiley a Sons, Inc., New York 1981-1982.
12. * * * *Toxicology and Risk Assessment.* Fan A. M., Chang L. W. eds. M. Dekker , Inc., 1996.
13. Loomis T. A., Hayes A. W. *Loomis' essentials of toxicology.* Acad. Press Ltd., London, 4th Ed.., 1996.
14. Firth J. G. *Analytical Aspects of Occupational Hygiene.* In : Proceedings of the Fortieth Chemists' Conference. Scarborough, June 9-11, 1987.
15. * * * *Methods used in the USSR for establishing biologically safe levels of toxic substances,* 19-45, WHO, Geneva 1975.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

16. Simiti I., Schwartz I. Structura chimica – Activitate biologica. Editura Dacia, Cluj 1974.

17. Wang Weng – Yang. *The toxicology of substances used in the manufacture of plastics and synthetic rubber. Gigiena truda i professional' nyh zabolevanij,* Leningrad Institut, 42-61, 1957.

18. Cotrau M. *Toxicologie – principii generale.* Editura Junimea, Iaşi 1978.

19. * * * *Dangerous properties of industrial materials.* Sax N. I.. ed. Van Nostrand Reinhold Co., 6th Ed., New York 1984.

20. Lazarev N. V. *Substanţe chimice nocive în industrie.* Vol. II (trad.). Editura Tehnica, Bucureşti 1954.

21. * * * *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety.* International Labour Office, Geneva 1983.

22. * * * Ministerul Sănătăţii. Academia de Ştiinţe Medicale. Institutul de Igiena şi Sănătate Publică Bucureşti. *Metodologia activitaţii de Medicina Muncii.* Caiet metodologic **2,** 1989.

23. Patty F. A. *Industrial Hygiene and Toxicology.* Vol. I. Intersc. Publ. New York, London 1958.

24. Carlson R. M. *Environmental Health Perspectives* **87,** 227-232, 1990.

25. Ashby J., Tennant R. W. *Mutat. Res.* **204,** 17-115, 1988.

26. Miller J. A. *Cancer Res.* **30,** 559-576, 1970.

27. Krishana D., Gapol G., Bradie B. *Pharmacology* **10,** 193-197, 1973.

28. Krishana D., Gapol G., Bradie B. *Exp. Mol. Pathology* **18,** 80-84, 1973.

29. Pullman A., Pullman B. *Adv. Cancer Res.* **3,** 117-121, 1955.

30. Simon Z. *Biochimie cuantică şi interacţii specifice.* Editura Ştiinţifică, Cluj 1973.

31. Miller J. A., Miller E. C. *Cancer Res.* **23,** 229-234, 1963.

32. Heller A., Pullman B. *Cancer Res.* **19,** 618-621, 1959.

33. Allison A. C., Nash T. *Nature* **197,** 788-790, 1963

34. Allison A. C., Peover M. E., Gough T. C. *Nature* **12,** 938-946, 1967

35. Mihailovski G.E., Kozlov I.I. *Biofizika* (Moskva) **12,** 938-946, 1967

36. Fishbein L. *Structural parameters associated with carcinogenesis (halogenated olefins, vinil and alkyl analogues and epoxides).* In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities. Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium. Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977.

37. Simmon V.F. *Structural correlations of carcinogenic and mutagenic alkyl halides.* In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities. Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium. Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977.

38. Schmeltz I. *Hydrazines : occurrence, analysis and carcinogenic activity as related to structure.* In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities.Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977.

39. Lijinsky W. *Chemical structure and carcinogenesis of nitrosamines.* In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities. Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium. Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

40. Van Duuren D.L. *Environmental Health Perspectives* **21**, 17-22, 1977.

41. Pederson L.G., Carlson G. J. *Chem. Phys.* **62**, 2009-2012, 1975.

42. Sahini V.Em., Hillebrand M., Volanschi E. *Corelarea structurii moleculare cu activitatea biologică a unor hidrocarburi aromatice substituite.* Contract nr. 463 / 1975. Executant Institutul de Chimie din Institutul Politehnic Bucureşti. Beneficiar Institutul de Igienă şi Sănătate Publică Bucureşti, 1975.

43. * * * *American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Committee on Threshold Limits : « Particle size-selective sampling in the workplace ».* Cincinnati, Ohio, USA 1991.

44. * * * *INRS. Occupational exposure limits at the workplace : ACGIH (USA) and MAK – Kommission (Germany).* Cahier de notes documentaires no 155, 1994.

45. Rosenstock L., Cullen M.R. *« Textbook of Clinical Occupational and Environmental Medicine,* 209-224, Saunders W.B. ed., 1994.

46. * * * *European Committee Standardization. Workplaces atmospheres – Sizes fraction definition for measurement of airborne particles.* EN 481 / 1993.

47. Liden G. *« Performance test for respirable dust samplers ». Licentiate Thesis.* Publication **6**, Lund 1994.

48. Stöber W., Flachsbart H., Hochrainer D. *Staub – Reinhaltung der Luft* **7**, 1-3, 1970.

49. * * * *Giom. Igienisti Industriali : «Criteri di campionamento del materiale particellato selettivo delle dimensioni delle particelle»,* D 53, 1991.

50. Coenen W. *Staub – Reinhaltung der Luft* **33**, 99-103, 1973.

51. Coenen W. *Staub – Reinhaltung der Luft* **35**, 452-458, 1975.

52. Dallmeyes G., Stein W., *Hützen I. Melliand Textilber.* **64**, 316-320, 1983.

53. Orenstein A.J. *Proc. Pneumoconiosis Conference,* Johanesburg 1959. Churchill J., Churchill A. eds., London 1960.

54. Bahners Th. *Melliand english* **3**, 69-70, 1991.

55. Liden G., Kenny L.C. *Ann. Occup. Hyg.* **35** (5), 485-504, 1991.

56. Lippmann M. *Environ. Res.* **46**, 86-106, 1988.

57. Liden G. Analyst 119, 27-33, 1994.

58. Ziskind M., Jones R.N., Weill H. *Am. Review Resp. Dis.* **113**, 643-661, 1976.

59. Beck E.G., Holusa R., Jirakova D., Kysela B., Robock K., Skoda V. *Sonderdruck Staub – Reinh. Luft* **4**, 113-119, 1973.

60. Beck E.G., Bruch J., Friedrichs K.H., Hilscher W., Pott E. *Inhaled Particles* **3**, 477-480, 1974.

61. Robock K. *Beitr. Silikose Forsch.* **92**, 1-100, 1967.

62. Robock K. *Staub –Reinhaltung der Luft* **28** (4), 148-160, 1968.

63. Robock K., Klosterkotter K., Meja B. *Silikosebericht Nordrhein – Westfalen* **7**, 141-149., 1969.

64. Robock K. *Beitr. Silikose Forsch. (Pneumokon.)* **26** (3), 111-120, 1974.

65. Niculescu T., Stanescu Dumitru R. *Igiena* **4**, 253-259, 1987.

66. Robock K, Reisner M.T.R. *Ann. Occup. Hyg.* **26**, 473-479, 1982.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

67. Robock K., Klosterkotter K. *Inhaled Particles* 3, Proc. Int. Symp. 3rd., 453-468, 1971.

68. Davies J.M.G., Addison J., Bolton R.E., Donaldson K., Jones A.D., Smith T. ***Brit. J. Exp. Pathol. 67***, 415-430, 1986.

69. Batis I., Simonato I., Artivieli M., Pooley F., Saracci R., Skidmore C., Wagner C. ***Int. J. Cancer*** **39**, 10-17, 1987.

70. Light W.G., Wei E.T. *The in Vitro Effects of Mineral Dust.* Brown R.C., Gormley I.P., Chamberlain M., Davies R. eds. Acad. Press, p. 139-145, 1980.

71. Wylie A.G., Bailey K.F., Kelse J.W., Lee R.J. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **54** (5), 239-252, 1993.

72. Wylie A.G. *Canadian mineralogist* **30**, 437-446, 1993.

73. Adamson I.Y., Bowden D.H. *Am. J. Pathol.* **137** (3), 523-529, 1990.

74. Barrett J.C., Lamb P.W., Wiseman R.W. *Environ. Health Persp.* **81**, 81-89, 1989.

75. * * *. *Mechanism in Fibre carcinogenesis.* Brown R.C., Haskins J.A., Johnson N.F. eds. NATO ASI Series, Series A : Life Sciences 223, p. 589, Plenum, New York 1989.

76. Dement J.M., Nettersheim P., Brody A.R. eds. *Workshop on fiber toxicology research needs. Environ. Health Perspect.* **88**, 261-268, 1990.

77. Kane A.B., MacDonald J.L. *Mechanism of mesothelial cell injury, proliferation and neoplasia induced by asbestos fibers.* In Fiber Toxicology Contemporary Issues (Warheit D.B. ed.), 1993.

78. Law B.D., Bunn W.B., Hesterberg T.W. *Inhalation Toxicol.* **3**, 309-321, 1991.

79. * * *. Mineral Fibers and Health.Liddell D., Miller R. eds. CRC Press, Boca Raton, FL 1991.

80. Warhait D.B., Johnson N.F. *Fundam. Appl. Toxicol.***15**, 633-640, 1990.

81. Suquet H. *Can. J. Chem.* **67**, 202-207, 1989.

82. Richards R.J., Masek L.C., Brown F.R. *Toxicologic Pathology* **19** (4), 526-539, 1991.

83. Kuhn D.C., Demers L.M. J. *Toxicol. Environ. Health* **35**, 39-50, 1992.

84. Gerde P., Scholander P. *Brit. J. Ind. Med.* **45**, 682-688, 1988.

85. Stanescu Dumitru R., Constantinescu V. *Igiena, Medicina Muncii şi Medicina Socială* **6**, 497-505, 1989.

86. Stanescu Dumitru R., Mandravel C., Bercu C. *Analyst* **119**, 689-691, 1994.

87. Stanescu Dumitru R., Mandravel C., Fagarasan E., Bercu C., Dumitru C. *Spectroscopy of Biological Molecules.* 6th European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules, Sept. 1995, Villeneuve d'Ascq, France. Merlin J.C., Turrell S., Huvenne J.P. eds., p. 111-112.

88. Mandravel C., Stanescu Dumitru R., Bercu C. *Rev. Roum. de Chimie* **40** (9), 873-878, 1995.

89. Mandravel C., Stanescu Dumitru R., Bercu C., Fagarasan E. *Rev. Roum. de Chimie* **42** (11), 1035-1039, 1997.

90. Timbrell V., Asherolt T., Goldstein B., Heyworth E., Neurman I.O., Rendall R.E.G., Reynolds J.A., Shilkin K.B., Whitaker I. *Inhaled Particles* **VI**, Walton W.H. ed., Pergamon, Oxford 1987.

91. Timbrell V. J. *Occup. Health Soc. Austr.* **3**, 3-12, 1983.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

92. Lippmann M. *Brit. J. Ind. Med.* **37**, 337-362, 1980.

93. Stanton M.F., Layard M., Tegeris A., May M., Morgan E., Smith A. J. *Natl. Cancer Inst.* **67**, 965-975, 1981.

94. Wagner J.C., Moncrieff C.B., Coles R., Griffiths D.M., Munday D.E. *Brit. J. Ind. Med.* **43**, 391-395, 1986.

95. Pooley F.D., Clark N.J. Int. Agency Res. *Cancer Sci Publ.* **30**, 79-86, 1980.

96. Davis J.M.G., Addison J., Bolton R.E., Donaldson K., Jones A.D., Smith T. *Brit. J. Exp. Pathol.* **67**, 415-430, 1986.

97. Davis J.M.G. *Proceedings of Mineral Fiber Symposium*, Sept. 1987, Lyon, France.

98. Davis J.M.G., Gylseth B., Morgan A. *Thorax* **41**, 167-175, 1986.

99. Davis J.M.G., Addison J., Bolton R.E., Donaldson K., Jones A.D., Miller B.G. *Carcinogenesis* **6**, 667-674, 1985.

100. Davis J.M.G., Beckett S.T., Bolton R.E., Collings P., Middleton A.P. *Brit. J. Cancer* **37**, 673-688, 1978.

101. Wagner J.C., Berry G., Skidmore J.W., Timbrell V. *Brit. J. Cancer* **29**, 252-260, 1974.

102. Bellmann B., Konig H., Muhle H., Pott E. J. *Aerosol. Sci.* **17**, 341-345, 1986.

103. Roggli V.L., Brody A.R. *Exp. Lung Res.* **7**, 133-147, 1984.

104. Gylseth B., Mowe G., Wannag A. *Brit. J. Ind. Med.* **40**, 375-379, 1983.

105. Guillemin M.P., Litzistor G., Buffat P.A. *Ann. Occup. Hyg.* **33** (2), 219-233, 1989.

106. Stanescu Dumitru R., Simionescu N., Bunescu C. *Analele Universitatii Bucureşti* **2**, 33-41,1993.

107. Langer A.M., Rubin I.B., Selikoff I.J., Pooley F.D. J. *Histochem. Cytochem.* **20**, 35-40, 1972.

108. Monchaux G., Bignon J., Jaurand M.C., Lafuma J., Sebastien P., Masse R., Hirsh A., Goni T. *Carcinogenesis* **2**, 229-236, 1981.

109. Bernstein D.M., Drew R.T., Kuschner M. *EPA 560 / 3-80 001 US. Environ. Protection Agency*, Washington D.C..

110. Berghmans P.A., Waele J.K., Philippaerts J.G., Vansant E.F., Adams F.C. *Surface and interface analysis* **14**, 760-770, 1989.

111. Harrington J.S., Miller K., MacNab G. *Environ. Res.* **4**, 95-117, 1971.

112. Lemkin P., Lipkin L., Merril C., Shifrin S. *Environ. Health Perspect.* **34**, 75-80, 1980.

113. Newman H.A.J., Heske Y.E., Saat A., Hard R.D. *Environ. Health Perspect.* **34**, 103-111, 1980.

114. Saat Y.A., Newman H.A.J., Haert R.A., Allison D.K. J. *Environ. Pathol. Toxicol.* **4**, 435-441, 1980.

115. Luys M.J., Deroy G., Vansant E.F., Adams F. J. *Chem. Soc. Faraday Trans.* **78**, 3561-3568, 1982.

116. Suquet H. *Clays and Clay Minerals* **78**, 439-445, 1989.

117. Suquet H., Malard C., Fournier J., Pezerat H. *Bull. Minaral.* **110**, 711-715, 1987.

118. * * * *The Occupational Environment – Its Evaluation and Control.* Dinardi S.R. ed. AIHA Press 1997.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

119.Bonneau L., Pezerat H. J. *Chim. Phys.* **80** (3), 275-280, 1983.

120.Bonneau L., Zalma R., Guignard J., Pezerat H., Mansuy D., Fontecave M. Proc. 3rd ind. *Workshop on «In vitro Effects of Mineral Dusts» 1985,* NATO ASI Series, Series G. Ecologica 1 Science H. 3E. Beck G., Bignon I. eds. p. 25-30.

121.Bonneau L., Suquet H., Malard C., Pezerat H. *Environ. Res.* **41, 251-267, 1986.**

122.Stanescu Dumitru R., Mandravel C., Bercu C., Fagarasan E. Rev. Roum. de Chimie 42 (4), 257-261, 1997.

123.Adachi S., Kawamura K., Yoshida S., Takemoto *K.Int. Arch. Occup. Environ. Health* **63,** 553-557, 1992.

124.Chang M.J.W., Joseph L.B., Stephens R.E., Hart R.W.J. *Ann. Cell. Toxicol.* **2, 187-190,** 1983.

125.Lund L.G., Aust A.E. *Carcinogenesis* **13** (4), 637-642, 1992.

126.Nejjari A., Fournier J., Pezerat H., Leanderson P. *Brit. J. Ind. Med.* **50, 501-504, 1993.**

127.Lenderson P., Soderkvist P., Tagesson C. *Brit. J. Ind. Med.* **46, 435-438, 1989.**

128.Kasai H., Nishimura S. *Gann* **75,** 841-844, 1984.

129.Libbus B.L., Illenye S.A., Craighead J.E. *Cancer Res.* **49,** 5713-5718, 1989.

130.Touray J.C., Baillif P., Jourand M.C., Bignon J., Magne L. *Can. J. Chem.* **65, 508-511,** 1987.

131.Auroma O.I., Halliwell B., Dizdaroglu M. J. *Biol. Chem.* **264,** 13024-13028, 1989.

132.Shibutani S., Takeshita M., Grollmann A.P. *Nature* **349, 431-434, 1991.**

133.Imlay J.A., Linn S. *Science* **240,** 1302-1309, 1988.

134.Fournier J., Guignard J., Nejjari A., Zalma R., Pezerat H. *The role of iron in the redox surface activity of fibres. Relation to carcinogenicity.* Brown R.C., Hoskins J.A., Johnson N.F. eds. Berlin, Springer Verlag 407-404, 1991.

135.Lund L.G., Aust A.E. *Arch. Biochem. Biophys.***278,** 60-64, 1990.

136.Costa D., Guignard G., Zalma R., Pezerat H. *Toxicol. Ind. Health* **5,** 1061-1078, 1989.

137.Costa D., Guignard G., Pezerat H. *Toxicol. Ind. Health* **5,** 1079-1097, 1989.

138.Kamp D.W., Graceffa P., Pryor W.A., Weitzman S.A. *Free Radical in Biology and Medicine* **12,** 293-315, 1992.

139.Ghio A.J., Zhang J., Piantadosi C.A. *Arch. Biochem. Biophys.* **298** (2), 646-650, 1992.

140.Pooley F.D. *Semin. Oncol.* **8,** 243-249, 1981.

141.Hoffmann T.A., Ladik J. *Cancer Res.* **21,** 474-479, 1961.

142.Robock K., Klosterkotter W. *Staub-Reinhalt. Luft.* **33,** 279-285, 1973.

143.Turver C.J., Brown R.C. Brit. J. *Cancer* **56,** 133-136, 1987.

144.Gulumian M., Van Wyk J.A. *Chem. Biol. Interact.***62,** 89-97, 1987.

145.Gulumian M., Sardianos F., Kilroe – Smith T., Ockerse G. *Chem. Biol. Interact.* **44,** 111-118, 1983.

146.Gulumian M., Kilroe – Smith T. *Environ. Res.* **43,** 267-273, 1987.

147.Gabor S., Anca Z. *Brit. J. Ind. Med.* **32,** 39-41, 1975.

148.Weitzman S.A., Weitberg A.B. *Biochem. J.* **225,** 259-262, 1985.

149.Goodglick L.A., Pietras L.A., Kane A.B. *Am. Rev. Respir. Dis.* **139,** 1265-1273, 1989.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

150.Fontecave M., Mansuy D., Jaouen M., Pezerat H. *Biochem. J.* **241**, 561-565, 1987.

151.Jajte J., Lao L., Wisniewska – Knypl J.M. *Brit. J. Ind. Med.***44**, 180-186, 1987.

152.De Waele J.K., Adams F.C. *Scanning Microscopy* **2** (1), 209-228, 1988.

153.McChellan R.G., Miller F.G., Hesterberg T.W., Warheit D.B., Bunn W.B., Kane A.B., Lippmann M., Mast R.W., McConnell E.E., Reinhardt C.F.*Regulatory Toxicology and Pharmacology* **16**, 321-364, 1992.

154. * * * *ILO. Safety in the use of mineral and synthetic fibres. Working document. Meeting of Experts on Safety in the Use of Mineral and Synthetic Fibres.* Geneva, 17-25 April 1989.

155.Ohberg I. *Ann. Occup. Hyg.* **31**, 529-545, 1987.

156.Sesko A., Cabot M., Mossman B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 7385-7389, 1990.

157.Warheit D.B., Hartsk M.A. *Exp. Lung Res.* **16**, 81-97, 1990 .

158.Niculescu T., Stanescu Dumitru R. *Igiena* **4**, 289-298; 1989.

159.Lipkin L.E. Environ. *Health Perspect.* **34**, 91-102, 1980.

160.Pickrell J.A., Hill J.Q., Carpenter R.L., Hahn F.F., Rebar A.H. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **44**, 557-561, 1989.

161.Tilkes F., Beck E.G. *Environ. Health Perspect.* **51**, 275-279, 1983.

162.Tilkes F., Beck E.G. *IARC Sci.* **30**, 475-483, 1980.

163.Tilkes F., Beck E.G. *Environ. Health Perspect.* **51**, 67-62, 1983.

164.Lee K.P. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **14**, 33-86, 1985.

165.Lippmann M. *Toxicology and Industrial Health* **6** (2), 225-246, 1990.

166.Lee K.P., Batras C.E., Grifith F.D., Waritz R.S. *Labor.Invest.***40**(2), 123-133, 1979.

167. * * * *OMS. Bureau Regional de l'Europe-Les effets biologiques des fibres minerales artificialles. Rapport sur une reunion OMS/CIRC,* Copenhagen, 20-22 apr.1982.

168.Hart G.A., Newman M.M., Bunn W.B., Hesterberg T.W. *Toxic. In Vitro* **6**, 317-326, 1992.

169.Hesterberg T.W., Barrett J. C. *Cancer Res.* **44**, 2170-2180, 1984.

170.Stanton M.F., Layard M., Tegeris A., Miller E., May M., Morgan E., Smith A. J. *Natl. Cancer Inst.* **67, 965-975, 1981.**

171.Stanton M.F., Layard M., Tegeris A., Miller E., May M., Kent E. J. *Natl. Cancer Inst.* **58**, 587-603, 1977.

172.Timbrell V. *Deposition and retention of fibres in the human lung.* In : Inhaled Particles V. Walton W.H. ed. , 347-369, Oxford, 1982.

173.Wylie A.G., Virta R.L., Segreti J.M. *Environ. Res.* **43**, 427-439, 1987.

174.Doll R. *Symposium on MMMF,* Copenhagen 1986: *Overview and Conclusions. Ann. Occup. Hyg.* **31** (4B), 805-819, 1986.

175.Morgan A., Holmes A. *The deposition of MMMF in the respiratory tract of the rat, their subsequent clearance, solubility in vivo and protein coating. In: Biological Effects of Man Made Mineral Fibers,* Vol. 2, p. 1-17, 1984.

176.Kennedy T.P., Dodson R., Rao N.V. *Arch. Biochem. Biophys.* **269**, 359-364, 1989.

177.Norseth T. *Annals of the New York Academy of Sciences* **534**, 377-386, 1988.

178.Connett P.H., Wetterhahn K.E. *Structure and Bonding* **54**, 93-124, 1983.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

179.Jennette K.W. *Environ. Health Perspect.* **40**, 233-252, 1981.

180.Norseth T. *Environ. Health Perspect.* **40**, 121-130, 1981.

181.Norseth T. *Nutr. Res. Suppl.* **1**, 587-591, 1985.

182.Ishinishi N., Yamamoto A., Hisanaga T.I. *Cancer Letters* **21**, 141-147, 1983.

183.Pershagen G., Nordberg G., Bjorklund N.E. *Environ. Res.* **34**, 227-241, 1984.

184.Rudnai P., Borzsonyi M. *Magy. Qnkol.* **25**, 73-77, 1981.

185.Cupo D.Y., Wetterhahn K.E. *Cancer Res.* **45**, 1146-1151, 1983.

186.Abbrachhio M.F., Heck J.D., Costa M. *Carcinogenesis* **3**, 321-326, 1982.

187.Hermens J.L.M. *Environ. Health Perspect.* **87**, 219-225, 1990.

188.Beck E.G., Holusa R., Jirakova D., Kysela B., Robock K., ***Sonderdruck Staub – Reinhaltung Luft*** **3**, 111-119, 1975.

189. * * * *OEDC Guidelines for testing of chemicals.* In cap. "Physical – Chemical Properties". Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, 1991.

190. * * * *European Pharmacopaeia* **1**, 73-75, 1974.

191.Danciu F., Kory M., Luputiu G. *Structura chimică – Biodisponibilitate.* Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1983.

192.Nealy W.B., Branson D.R., Blau G.E. *Environ. Sci. Techn.* **8**, 1113-1119, 1975.

193.Filov V.A. *Biofizika* **7** (1), 73-79, 1962.

194.Leo A., Hansch C., Elkins D. *Chemical Review* **71** (6), 526-553, 1969.

195. * * * *Advances in Linear Free Energy Relationships. Chapman N.B.,* Shorter J. eds., Plenum Press, London, New York 1972.

196.Zahradnik R. *Arch. Int. Pharmacodyn. Theor.* **135**, 311-329, 1962.

197.Zahradnik R. *Experientia* **18**, 534-541, 1962.

198.Zahradnik R., Bocek K., Kopecky J. *Proc. 3rd . Int. Pharmacol. Meeting,* New York, Pergamon, p. 127-139, 1968.

199.Hansch C., Fujita T. J. *Am. Chem. Soc.* **86**, 1616-1620, 1964.

200.Fujita T., Lwasa J., Hansch C. J. *Am. Chem. Soc.* **86**, 5175-5181, 1964.

201.Clayton J.M., Parcell W.P. J. *Med. Chem.* **12**, 1087-1090, 1969.

202.Neely W.B. *Chemical Pharmacology,* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970.

203.Sahini V. Em., Hillebrand M. *Chimie cauntică în exemple şi aplicaţii.* Editura Academiei R.S.R., Bucureşti 1985.

204.Golubev A.A. *Kolicestvennaja toksikologija (Quantitative toxicology),* Leningrad, Medicina 1973.

205.Sato A., Nakajima T. *Arch. Environ. Health* **2**, 69-75, 1979.

206.Spinu E.I., Ivanova L.N. *Matematiceskoe prognizirovanie i profilaktika zagrajaznenija okruzajuscej sredy pesticidami (Mathematical prognostication and prophylaxis of environmental pollution by pesticides). Medicina* , Moskow, 1977.

207.Nikiforov B. *Metod opredelenija predel'no dopustimyh koncentracij atmosfernyh zagraznitelej (method for determining maximum allowable concentrations of atmospheric pollutants). Gigiena i sanitarija* **10**, 56-60, 1979.

VERIFICAT
2017

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ "CAROL I" BUCUREŞTI

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tiparul s-a executat sub c-da nr. 568/1999, la
Tipografia Editurii Universităţii din Bucureşti

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

DE SPIRITU ET ANIMA
Biblioteca
Centrală
Universitar.
CAROL I

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ISBN 973-575-404-5

Lei 16000

1.60

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro